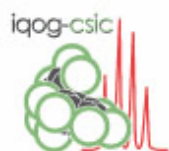




FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

SÍNTESIS DE SUSTRATOS DEL SURCO MENOR DEL ADN CON ESTRUCTURA TIPO GLICO-OLIGOAMIDA

Memoria que presenta
CONCEPCIÓN BADÍA TORTOSA
para optar al grado de
Doctor en Ciencias Químicas



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



**PARQUE
CIENTÍFICO
DE MADRID**

INSTITUTO DE QUÍMICA ORGÁNICA GENERAL
DEPARTAMENTO DE SÍNTESIS, ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LOS COMPUESTOS
ORGÁNICOS (SEPCO)

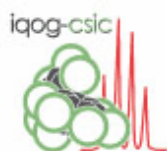
Madrid, 2010



FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

SÍNTESIS DE SUSTRATOS DEL SURCO MENOR DEL ADN CON ESTRUCTURA TIPO GLICO-OLIGOAMIDA

Memoria que presenta
CONCEPCIÓN BADÍA TORTOSA
para optar al grado de
Doctor en Ciencias Químicas



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



**PARQUE
CIENTÍFICO
DE MADRID**

INSTITUTO DE QUÍMICA ORGÁNICA GENERAL
DEPARTAMENTO DE SÍNTESIS, ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LOS COMPUESTOS
ORGÁNICOS (SEPCO)

Madrid, 2010

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el laboratorio 239 del Departamento de Síntesis, Estructura y Propiedades de los Compuestos Orgánicos (SEPCO) del Instituto de Química Orgánica General (I.Q.O.G.) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.) y en el laboratorio Dimitri Mendeleev del Parque Científico de Madrid (PCM), bajo la dirección de la Dra. Cristina Vicent Laso y del Dr. Pedro Noheda Marín.

El trabajo recogido en esta memoria ha sido financiado por el proyecto de investigación BQU2003-03550-C03-02 del Ministerio de Educación y Ciencia y por una beca predoctoral FPI BES-2004-4130 asociada al mismo.

AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el Departamento de Síntesis, Estructura y Propiedades de los Compuestos Orgánicos (SEPCO) del Instituto de Química Orgánica General del C.S.I.C., bajo la dirección de la Dra. Cristina Vicent Laso y el Dr. Pedro Noheda Marín, a quienes quiero expresar mi agradecimiento por haberme dado la oportunidad de trabajar en su grupo, por su apoyo, su esfuerzo y su confianza en mí durante el desarrollo de este trabajo y la escritura de esta Tesis.

También quiero agradecer al Prof. Jesús Jiménez Barbero (CIB, C.S.I.C.) por sus aportaciones en los estudios estructurales de nuestros ligandos; al Dr. Bernardo Herradón, director del I.Q.O.G, por su acogida en el centro y al Dr. Jose Luis García Ruano por su labor como tutor de mi tesis en la U.A.M.

Agradecer además la inestimable ayuda de todos mis compañeros de grupo que están o han estado en nuestro laboratorio y sin cuya ayuda este trabajo no hubiera sido posible: los Dr. Florence Souard y Pablo Peñalver, a Rafael del Villar-Guerra, M^a Teresa Blázquez y David Herrero Ruiz.

También a mis compañeros del PCM, por su acogida como una más en el grupo desde el principio: Elena, David, Raul, Luis y Nuria.

Muy en especial dar las gracias a Pablo, Tati, Bea y Rafa por los buenos momentos y sobre todo por su apoyo en los no tan buenos ya que sin su ayuda durante estos años no hubiera llegado hasta aquí.

También quiero dar las gracias al resto de mis compañeros del Departamento e Instituto que están o han estado a lo largo de estos cinco años: Jose, Lourdes, Esther, Ángela, Elisa, Isa, Félix, Laura, Isra, Juanfra, Montse, Fernando, Mario, Igor, Rubén, Elma, Olga, Nono, Leire, Alberto... y tantos otros. Gracias por los buenos momentos compartidos.

A mis amigos de Jaén por estar siempre ahí. A mis abuelos, mi tía Manoli, mi abuelo Manolo y al resto de mi familia.

Por último, a mis padres y a mi hermana que han estado a mi lado tanto en los buenos como en los malos momentos agradecerles de todo corazón su paciencia y su gran apoyo.

ÍNDICE

<i>Abreviaturas y Acrónimos</i>	<i>i</i>
<i>Nomenclatura</i>	<i>iii</i>
INTRODUCCIÓN GENERAL	
<i>Importancia del estudio de la interacción carbohidrato-ADN</i>	1
<i>Diseño del vector A</i>	11
<i>Diseño del vector B</i>	40
<i>Diseño de miméticos de glico-péptidos</i>	47
OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	
<i>Objetivos</i>	55
<i>Plan de Trabajo</i>	57
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	
1. <u>PREPARACIÓN DE LAS GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I</u>	
1.1. INTRODUCCIÓN	63
1.1.1. Formación del enlace amida	63
1.1.2. Síntesis de oligoamidas heteroaromáticas	65
1.2. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I POR LA RUTA A. (Azúcar-NH₂ (III) + HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind (II)) (RUTA LINEAL)	88
1.2.1. Preparación de EtO-γ-Py(A)-NO₂ (13)	90
1.2.2. Preparación del ácido HO-γ-Py(A)-Ind (16)	91
1.2.3. Preparación de los equivalentes sintéticos del pirrol B	96

1.2.4. Preparación de los equivalentes sintéticos de los ácidos oligoamídicos II (Compuestos 33, 34 y 35)	100
1.2.5. Preparación de las aminas anoméricas III	107
1.2.6. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I	112
1.2.7. Reacciones de desprotección	133
1.2.7.1. Reacciones de desbencilación	135
1.2.7.2. Reacciones de desacetilación	137
1.2.8. Estudio conformacional de β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)	141
1.3. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I POR LA RUTA B (Azúcar-Py(B)[R]-NO ₂ (IV) + HO- γ -Py(A)-Ind (16)) (RUTA CONVERGENTE)	148
1.3.1. Preparación de los 2-ácidos carboxílicos N-alkil nitro pirroles VII	149
1.3.2. Preparación de los glico-nitropirroles IV	150
1.3.3. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I por la Ruta B: Azúcar-Py(B)-NO ₂ (o cHx-Py(B)-NO ₂) (IV)+ HO- γ -Py(A)-Ind (16)	156
1.3.4. Preparación de los modelos hebra azúcar Azúcar-Py(B)[R]-NHAc (o cHx-Py(B)[R]-NHAc	161
1.4. COMPARACIÓN DE LAS RUTAS A Y B PARA LA PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS	172
1.5. SÍNTESIS DE MIMÉTICOS DE GLICO-PÉPTIDOS	179

1.5.1. Introducción	179
1.5.2. Preparación de (AcO) ₃ -β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-γ-Py(A)-Ind (70)	181
2. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II	
2.1. INTRODUCCIÓN	191
2.2. PREPARACIÓN DE LAS GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II POR LA RUTA C (Azúcar-NH ₂ + HO-Py(B)[(CH ₂) _n X-O]-γ-Py(A)-Ind)	200
2.2.1. Preparación del ácido HO-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (77)	202
2.2.2. Preparación de los compuestos cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (75) y (HO) ₄ -β-Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (76)	203
2.2.3. Estudio conformacional de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (75)	206
2.3. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II POR LA RUTA D: (Azúcar-Py(B)[(CH ₂) _n XH]-γ-Py(A)-Ind (glico-oligoamida Tipo I) + R-O)	220
2.3.1. Estudio de reactividad entre diferentes alcoholes alquílicos y tioisocianatos. Preparación de los modelos sintéticos	223
2.3.2. Preparación de derivados tipo glico-oligoamida-calix-[4]-arenos (84.a-c y 84.e)	230
2.4. COMPARACIÓN DE LAS RUTAS C Y D PARA LA SÍNTESIS DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II	245
CONCLUSIONES	
Conclusiones metodológicas	251
Conclusiones prácticas	251

PARTE EXPERIMENTAL**Materiales y Métodos**

<i>Disolventes y Reactivos</i>	257
<i>Procedimientos Generales</i>	257
<i>Técnicas y Aparatos</i>	258

Síntesis de glico-oligoamidas**1. Preparación de glico-oligoamidas Tipo I**

1.1. Preparación de EtO-γ-Py(A)-NO₂ (13)	261
1.2. Preparación de EtO-γ-Py(A)-Ind (15)	262
1.3. Preparación de HO-γ-Py(A)-Ind (16)	263
1.4. Preparación de los equivalentes sintéticos del pirrol B (Estructura V)	
1.4.1. Preparación de MeO-Py(B)-NO₂ (17)	264
1.4.2. Preparación de EtO-Py(B)-NO₂ (20)	265
1.4.3. Preparación de Br(CH₂)₁₁OBn¹ (21)	266
1.4.4. Preparación de Br(CH₂)₁₁SBn (22)	267
1.4.5. Preparación de EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (18)	268
1.4.6. Preparación de EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂ (19)	269
1.5. Preparación de los ésteres X-Py[R]-γ-Py-Ind (30 (X = MeO-, R = -Me) 31 (X = EtO-, R = -(CH ₂) ₁₁ OBn), 32 (X = EtO-, R = -(CH ₂) ₁₁ SBn)	
1.5.1. Preparación del MeO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (30)	270
1.5.2. Preparación de EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (31)	272
1.5.3. Preparación de EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (32)	273
1.6. Preparación de los ácidos HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind (33 (R = -Me), 34 (R = -(CH ₂) ₁₁ OBn), 35 (R = -(CH ₂) ₁₁ SBn)	
1.6.1. Preparación del HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)	275

¹ Cloux, R.; Défayes, G.; Fóti, K.; Dutoit, J-C.; Kováts, E.; *Synthesis*, **1993**, 909-919.

1.6.2. Preparación del HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (34)	276
1.6.3. Preparación de HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (35)	277
1.7. Preparación de los equivalentes sintéticos de las aminas III	
1.7.1. Preparación de (AcO)₄-β-Xyl (36.a)	279
1.7.2. Preparación de (AcO)₄-β-L-Fuc (37.a)	279
1.7.3. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-N₃ (36.b)	280
1.7.4. Preparación de (AcO)₃-β-L-Fuc-N₃ (37.b)	281
1.7.5. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-N₃ (38.b)	282
1.7.6. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-N₃ (39.b)	282
1.7.7. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)	283
1.7.8. Preparación de (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (37)	284
1.7.9. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (38)	284
1.7.10. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39)	285
1.8. Activación de los ácidos HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind (33 (R = -Me), 34 (R = -(CH₂)₁₁OBn), 35 (R = -(CH₂)₁₁SBn))	
1.8.1. Preparación de F-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (40)	286
1.8.2. Preparación del BtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (46)	287
1.8.3. Preparación del AtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (47)	288
1.8.4. Preparación de BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (48)	290
1.8.5. Preparación de AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (49)	291
1.8.6. Preparación de AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (50)	293
1.9. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I	
1.9.1. Preparación de (AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.b/52.c)	294
1.9.2. Preparación de (AcO)₃-α/β-L-Fuc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.h/52.i)	295
1.9.3. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.g)	297

1.9.4. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.e)	298
1.9.5. Preparación de cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)	299
1.9.6. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (3.a)	301
1.9.7. Preparación de (AcO) ₃ - α / β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.b/55.c)	302
1.9.8. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.e)	305
1.9.9. Preparación de (AcO) ₃ - α / β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SBn]- γ -Py(A)-Ind (56.b/56.c)	307
1.10. Reacciones de desprotección de glico-oligoamidas Tipo I	
1.10.1. Reacciones de desbencilación	
1.10.1.1. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)	308
1.10.1.2. Preparación de (AcO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (60.c)	310
1.10.1.3. Preparación de (AcO) ₃ - α -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (60.b)	311
1.10.1.4. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (60.e)	313
1.10.2. Reacciones de desacetilación	
1.10.2.1. Preparación de (HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)	314
1.10.2.2. Preparación de (HO) ₄ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.e)	316
1.10.2.3. Preparación de (HO) ₄ - β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.g)	317
1.10.2.4. Preparación de (HO) ₃ - β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.h/1.i)	318
1.10.2.5. Preparación de (HO) ₃ - β -Xyl-Py(B) [(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)	320

1.10.2.6. Preparación de (HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.e)	321
1.10.2.7. Preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.c)	322
1.10.2.8. Preparación de (HO)₃-α/β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (4.b/4.c)	324
1.11. Preparación de HO-Py(B)-NO₂ (63)	325
1.12. Preparación de HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)	326
1.13. Formación del enlace amidoglicosídico. Obtención de los compuestos IV	
1.13.1. Preparación de cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)	327
1.13.2. Preparación de (AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-NO₂ (66.b/66.c)	328
1.13.3. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NO₂ (66.e)	329
1.13.4. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NO₂ (66.g)	330
1.13.5. Preparación de (AcO)₃-α/β-L-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i)	331
1.13.6. Preparación de cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.a)	332
1.13.7. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.c)	333
1.13.8. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.e)	334
1.13.9. Preparación de BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]NO₂ (67)	335
1.14. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas Tipo I, por la Ruta B	
1.14.1. Preparación de cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a) por la Ruta B	336
1.14.2. Preparación de (AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.b/52.c) por la Ruta B	337
1.14.3. Preparación de (AcO)₃-α/β-Fuc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.h/52.i) por la Ruta B	338

1.14.4. Preparación de (AcO) ₄ - β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.g) por la Ruta B	339
1.14.5. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.e) por la Ruta B	339
1.15. Formación de los compuestos 61.a, c, e, g, i y 62.a, c y e	
1.15.1. Preparación de cHx-Py(B)-NHAc (61.a)	340
1.15.2. Preparación de (AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)-NHAc (68.b/68.c)	341
1.15.3. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)-NHAc (68.e)	342
1.15.4. Preparación de (AcO) ₄ - β -Glc-Py(B)-NHAc (68.g)	343
1.15.5. Preparación de (AcO) ₃ - α/β -L-Fuc-Py(B)-NHAc (68.h/68.i)	344
1.15.6. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.a)	345
1.15.7. Preparación de (AcO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.c)	346
1.15.8. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.e)	348
1.15.9. Preparación de (HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)-NHAc (61.c)	349
1.15.10. Preparación de (HO) ₄ - β -Gal-Py(B)-NHAc (61.e)	350
1.15.11. Preparación de (HO) ₄ - β -Glc-Py(B)-NHAc (61.g)	351
1.15.12. Preparación de (HO) ₃ - β -L-Fuc-Py(B)-NHAc (61.h/61.i)	351
1.15.13. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.a)	353
1.15.14. Preparación de (HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.c)	354
1.15.15. Preparación de (HO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.e)	355
1.16. Preparación de miméticos de glico-péptidos a partir de oligoamidas	

1.16.1. Preparación de (AcO) ₃ -β-O-GlcNHAc-Thr-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-γ-Py(A)-Ind (72)	356
1.16.2. Preparación de (AcO) ₃ -β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-γ-Py(A)-Ind (70)	358
2. Preparación de glico-oligoamidas Tipo II	
2.1. Preparadas por la Ruta C: Azúcar-NH₂ + HO-Py(B)[(CH₂)₁₁X-O]-γ-Py(A)-Ind	
2.1.1. Preparación de Br(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py (79)	360
2.1.2. Preparación de EtO-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-NO ₂ (78)	361
2.1.3. Preparación de EtO-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (80)	362
2.1.4. Preparación de HO-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (77)	364
2.1.5. Preparación de BtO-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (81)	366
2.2.6. Preparación de AtO-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (82)	367
2.1.7. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (75)	369
2.1.8. Preparación de (AcO) ₄ -β-Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (83.e)	370
2.1.9. Preparación de (HO) ₄ -β-Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SCH ₂ py]-γ-Py(A)-Ind (76)	372
2.2. Preparadas por la Ruta D: Azúcar-Py(B)-Py(B)[(CH₂)_nXH]-γ-Py(A)-Ind (glico-oligoamida Tipo I) + R-O.	
2.2.1. Preparación de los modelos alquílicos	
2.2.1.1. Preparación de CH ₃ (CH ₂) ₉ OCSNHBn (87)	373
2.2.1.2. Preparación de <i>p</i> -MeO-Ph-NHCSO(CH ₂) ₉ CH ₃ (88)	374
2.2.1.3. Preparación de Tritilo-NHCSO(CH ₂) ₉ CH ₃ (89)	375
2.2.2. Preparación de los compuestos 90.a y 90.c	
2.2.2.1. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ C=SNHPh- <i>p</i> -OMe]-γ-Py(A)-Ind (90.a)	376

2.2.2.2. Preparación de (AcO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ C=SNHPh- <i>p</i> -OMe]- γ -Py(A)-Ind (91.c)	378
2.2.2.3. Preparación de (HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OC=SNHPh- <i>p</i> -OMe]- γ -Py(A)-Ind (90.c)	379
2.2.3. Preparación de los derivados de calix-[4]-arenos	
2.2.3.1. Caracterización de <i>p</i> -monotioisocianato-calix-[4]-areno (85)	381
2.2.3.2. Caracterización de <i>p</i> -1,3-ditioisocianato-calix-[4]-areno (86)	382
2.2.3.3. Preparación de cHx-Py[(CH ₂) ₁₁ OC=SNH- <i>p</i> -calix-[4]-areno]- γ -Py-Ind (84.a)	383
2.2.3.4. Preparación de (AcO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OC=SNH- <i>p</i> -calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.c)	385
2.2.3.5. Preparación de (AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OC=SNH- <i>p</i> -calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (92.e)	387
2.2.3.6. Preparación de (HO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OC=SNH- <i>p</i> -calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.e)	390
2.2.3.7. Preparación de cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OC=SNH- <i>p</i> -calix-[4]-areno- <i>p</i> -NCS]- γ -Py(A)-Ind (84.b)	391

Abreviaturas y acrónimos¹

A	adenina
<i>API-ES</i>	<i>Atmospheric Pressure Ionization Electrospray</i>
ax	axial
Boc	carbamato de terc-butoxicarbonilo
C	citosa
cHx	ciclohexilo
col.	colaboradores
<i>ct</i> -ADN	<i>calthymus</i> ADN
cuant.	cuantitativo
DAST	trifluoro de dietilaminoazufre
DCC	diciclohexilcarbodiimida
DECP	dietilcianofosfonato
DIEA	diisopropiletilamina
Dp	<i>N, N</i> -dimetil-propildiamino
disol.	disolución
DIPC	diisopropilcarbodiimida
DIPU	diisopropilurea
ec.	ecuatorial
EHs	enlaces de hidrógeno
E.M.	espectrometría de masas
eq.	equivalente
Et	etilo
Fmoc	carbamato de 9-fluorenilmetoxycarbonilo
Fuc	fucosa
G	guanina
Gal	galactosa
Glc	glucosa
GlcNAc	<i>N</i> -acetilglucosamina

¹ Coghill, A. M.; Garson, L. R. *The ACS Style Guide. Effective Communication of Scientific Information*; Ed. Washington, DC: American Chemical Society; Oxford; New York: Oxford University Press, 3ª Ed. **2006**.

Hp	hidroxipirrol
HOAt	1-hidroxy-7-aza-benzotriazol
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
Im	imidazol
Ind	indol
IR	espectroscopía de infrarrojo
nOe	efecto nuclear Overhauser
P.eb.	punto de ebullición
PEG	polietilenglicol
P.f.	punto de fusión
PMP	<i>para</i> -metoxifenilo
Py	pirrol
py	piridina
Ser	serina
ref.	referencia bibliográfica
rto.	rendimiento
¹ H-RMN	resonancia magnética nuclear de protón
¹³ C-RMN	resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN	resonancia magnética nuclear
sat.	disolución acuosa saturada
<i>sist.</i>	sistema
STD	<i>Saturation Transfer Difference</i>
T	timina
t.a.	temperatura ambiente
TFFH	hexafluorofosfato de fluor- <i>N, N, N', N'</i> - tetrametilformamidinio
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
Tm	tiempo de mezcla
TMSN ₃	azida de trimetilsililo
Thr	treonina
Xyl	xilosa
γ	derivado del ácido γ-aminobutírico

Nomenclatura y Numeración¹

Para un mejor seguimiento de la lectura de esta memoria los compuestos serán nombrados según las abreviaturas indicadas en el apartado de **Abreviaturas y acrónimos**, empleando Py para el pirrol, Ind para el indol y γ para los derivados del ácido aminobutírico. El pirrol unido al anillo del indol será nombrado como Py(A) y el otro Py(B). Debido a la importancia de los NH, se numerarán con independencia de las reglas IUPAC y se empezará a contar a partir del NH del indol, siendo éste el NH-1. La numeración empleada para cada fragmento de una oligoamida de estructura general **-Py(B)- γ -Py(A)-Ind** será la indicada a continuación: (Figura 1)

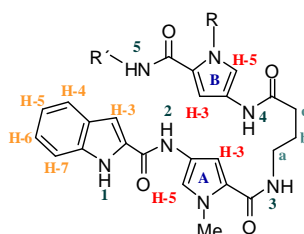
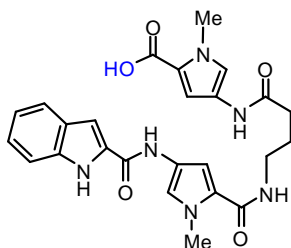


Figura 1. Numeración para el fragmento de oligoamida **-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**. En azul se indica el nombre para cada pirrol (A y B). La numeración de los hidrógenos de los pirroles se indica en rojo y la de los hidrógenos del indol en naranja. Los NHs se numeran a partir del NH del indol, siendo éste el NH-1 y se indica en verde.

Es importante señalar que cualquier sustitución del Py(B) diferente a metilo se indicará abreviándola entre corchetes.

¹ Fernández, E.; Fariña, F. *Nomenclatura de la química orgánica (IUPAC). Secciones A, B, C, D, E, F y H.*; C.S.I.C. y Real Sociedad Española de Química, Madrid, **1987**.

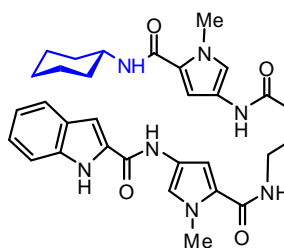
A modo de ejemplo, se detallará la nomenclatura empleada para algunos de los diferentes tipos de compuestos que se presentan en la memoria:



33

HO-Py- γ -Py-Ind

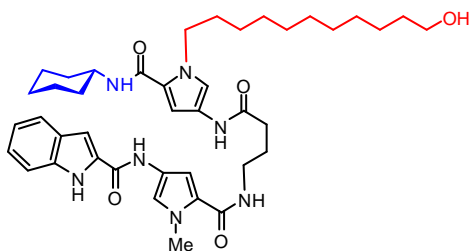
4-(4-(4-(1*H*-indol-2-carboxamido)-
1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamido)butanamido)
-1-metil-1*H*-pirrol-2-ácido carboxílico



52.a.

cHx-Py- γ -Py-Ind

N-(5-(4-(5-(ciclohexilcarbamoyl)-
1-metil-1*H*-pirrol-3-ilamino)-
4-oxobutilcarbamoyl)-
-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-1*H*-indol-2-carboxamida



2.a.

cHx-Py-[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py-Ind

N-(5-(4-(5-(ciclohexilcarbamoyl)-
-1-(11-hidroxiundecil)-1*H*-pirrol-3-ilamino)-4-oxobutilcarbamoyl)-
-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-1*H*-indol-2-carboxamida

Clasificación de las glico-oligoamidas

Las glico-oligoamidas se han clasificado en tres grandes bloques: glico-oligoamidas Tipo I, glico-oligoamidas Tipo II y miméticos de glico-péptidos.

- Glico-oligoamidas Tipo I son tanto las que poseen un metilo en el N del pirrol B y como las que poseen una cadena alquílica de 11 carbonos terminada en un grupo hidroxilo o en los grupos *O*- y *S*-Bn. Algunos ejemplos de glico-oligoamidas Tipo I se pueden ver en la figura 2.

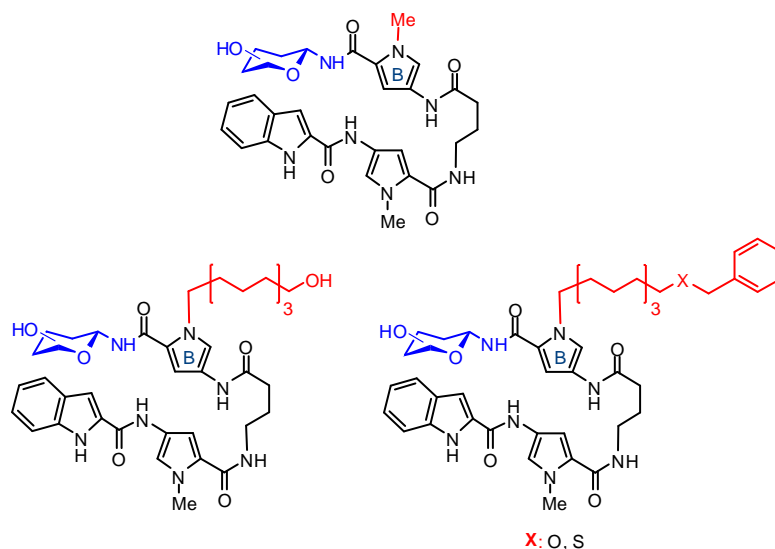


Figura 2. Glico-oligoamidas Tipo I

- Glico-oligoamidas Tipo II son las que poseen la unidad estructural **Azúcar ó Carbohidrato-Py(B)[(CH₂)₁₁-X]-γ-Py(A)-Ind** (glico-oligoamida Tipo I) y una sustitución al final de la cadena alquílica, sustituyente del N del pirrol B,

(por ejemplo, un calixareno) diferente a hidroxilo o a los grupos *O*- y *S*-Bn. En la figura 3 se pueden ver algunos de los ejemplos de glico-oligoamidas Tipo II.

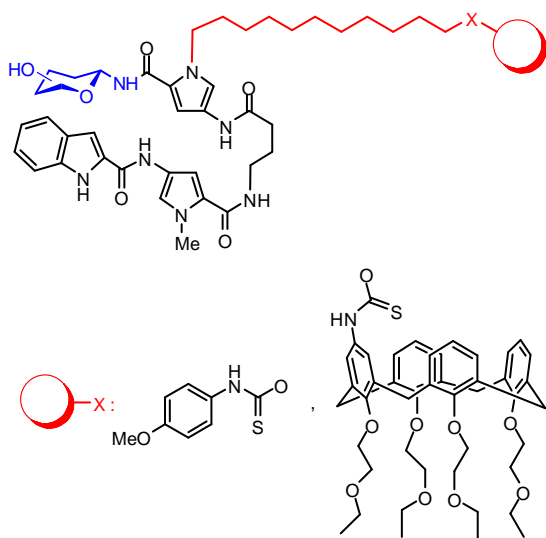


Figura 3. Ejemplos de glico-oligoamidas **Tipo II**

- Miméticos de glico-péptidos: aquellos compuestos que incorporen *N*-acetilglucosamina (GlcNAc) y un resto de *L*-treonina (*L*-Thr) a la unidad estructural **-Py(B)[(CH₂)₁₁-X]-γ-Py(A)-Ind**. En la figura 4 se puede ver un ejemplo.

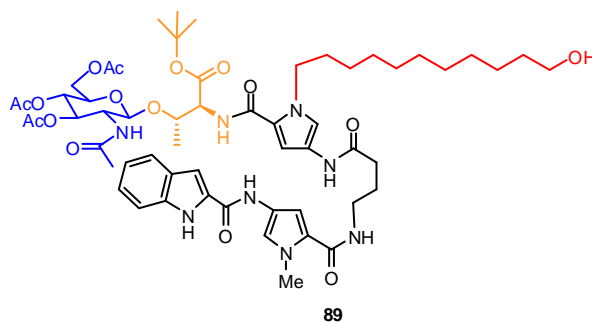


Figura 4. Ejemplo de un mimético de glico-péptidos. En color naranja se muestra el resto de *L*-treonina (*L*-Thr) y en azul el resto de *N*-acetilglucosamina (GlcNAc).

Además, a la hora de hablar de **aspectos funcionales de las oligoamidas** (por ejemplo, en los estudios conformacionales y en los de interacción con el ADN) se emplearán los términos **vector** y **vehículo ligando** indistintamente. Así, se denominará **vector A** al que posee un grupo metilo en el N del pirrol B y **vector B** al que posee una cadena alquílica de 11 carbonos terminada en un grupo hidroxilo en el N del pirrol B. (Figura 5)

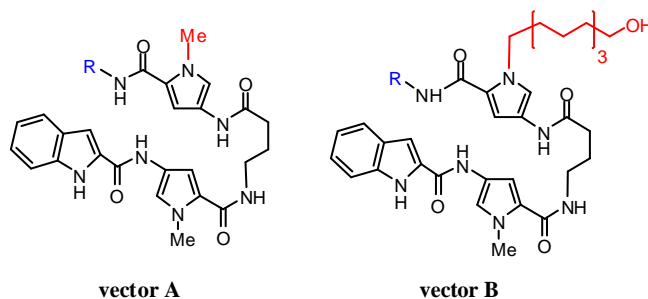


Figura 5. Vectores A y B

También se definirán como:

- 1) **Hebra azúcar** aquella que contiene el carbohidrato y el pirrol B *N*-acetilado en posición 4. (Figura 6)
- 2) **Hebra indol** aquella que contiene el indol, el pirrol A y el derivado del ácido aminobutírico (γ). (Figura 6)

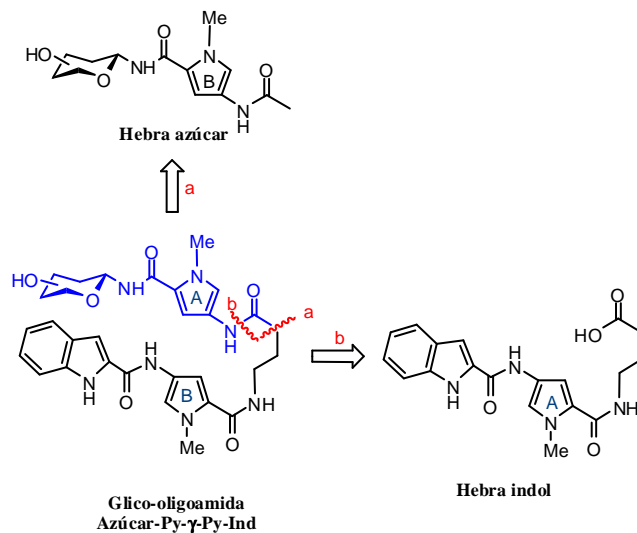


Figura 6. Hebra azúcar y hebra indol

Para la numeración de los NH de los modelos hebra azúcar se empezará a contar a partir del NH glicosídico. (Figura 7)

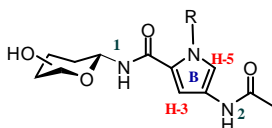


Figura 7. Numeración de los modelos hebra azúcar

Por último, definiremos dos conformaciones extremas de las glico-oligoamidas: la conformación abierta, en la que la hebra azúcar y la hebra indol están totalmente extendidas y la conformación horquilla (o *hairpin*) en las que la hebra azúcar y la hebra indol están enfrentadas, pudiéndose establecer interacciones intramoleculares entre el azúcar y el indol además de entre ambos pirroles. (Figura 8)

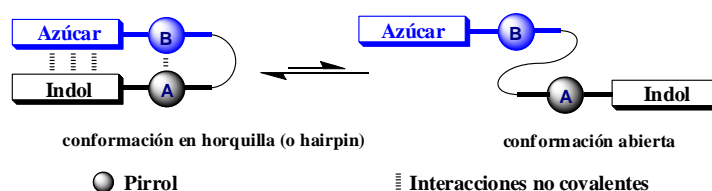


Figura 8. Conformaciones en horquilla y abierta de las glico-oligoamidas.

Se prepararán una serie de modelos de las glico-oligoamidas. Se diferenciará entre los modelos de la **hebra azúcar** y el modelo de la **hebra indol**. Estos compuestos se usarán como modelos no plegados en los estudios conformacionales de las glico-oligoamidas.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Importancia del estudio de la interacción carbohidrato-ADN

Durante las últimas décadas, los surcos del *B*-ADN han sido dianas usadas para el diseño de moléculas capaces de interferir en la transcripción del ADN.¹ Además, ha habido un gran progreso en el diseño de moléculas pequeñas que reconocen selectivamente el surco menor del *B*-ADN.² Pero, sin duda, el logro más relevante ha consistido en el diseño de ligandos que puedan unirse preferentemente a una secuencia específica del ADN.³

¹ a) Dervan, P. B. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 2215-2235. b) Hurley, L. H. *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, 2, 188-200. c) Neidle, S. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, 18, 291-309. d) Dervan, P. B.; Poulin-Kerstien, A. T.; Fechter, E. J.; Edelson, B. S. *Top. Curr. Chem.* **2005**, 253, 1-31. e) Wang, B.; Tan, J.; Zhu, L. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **2010**, 79, 1-4.

² a) Wang, L.; Bailly, C.; Kumar, A.; Ding, D.; Bajic, M.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, 97, 12-16. b) Trauger, J. W.; Baird E. E.; Dervan P. B. *Chem. Biol.* **1996**, 3, 369-377. c) Chaires, J. B. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, 8, 314-320. d) Doss, R. M.; Marques, M. A.; Foister, S.; Dervan, P. B. *Chem. Biodiver.* **2004**, 1, 886-899. e) Bostock-Smith, C. E.; Searle, M. S. *Nucl. Acids. Res.* **1999**, 27, 1619-1624. f) Pindur, U.; Jansen, M.; Lemster, T. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 2805-2847. g) Han, F.; Taulier, N.; Chalikian T. V. *Biochemistry*, **2005**, 44, 9785-9794.

³ a) White, S.; Szewczyk, J. W.; Turner, J. M.; Baird, E. E.; Dervan P. B. *Nature*, **1998**, 39, 468-471. b) Dervan P. B. *Science*, **1986**, 232, 464-471. c) Loontjens, F. G.; Regenfuss, P.; Zeche, A.; Dumortier, L.; Clegg R. M. *Biochemistry*, **1990**, 29, 9029-9039. d) Parkinson, J. A.; Barber, J.; Douglas, K. T.; Rosamond, J.; Sharpless, D. *Biochemistry*, **1990**, 29, 10181-10190. e) Fede, A.; Labhardt, A.; Bannwarth, W.; Leupin W. *Biochemistry*, **1991**, 30, 11377-11388. f) Cho, J.; Parks, M. E.; Dervan P. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, 92, 10389-10392. g) Parks, M. E.; Baird, E. E.; Dervan P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6147-6152. h) Trauger, J. W.; Baird, E. E.; Dervan P. B. *Nature*, **1996**, 382, 559-561. i) Herman, D. M.; Baird, E. E.; Dervan P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1382-1391. j) Gottesfeld, J. M.; Melander, C.; Suto, R. K.; Raviol, H.; Luger, K.; Dervan P. B. *J. Mol. Biol.* **2001**, 309, 615-629. k) Rosu, F.; Gabelica, V.; Houssier, C.; De Pauw, E. *Nucleic Acid Research*, **2002**, 30, e82. l) Marques, M. A.; Doss, R. M.; Urbach, A. R.; Dervan P. B. *Helvetica Chimica Acta*, **2002**, 85, 4485-4517. m) Briehn, C. A.; Weyermann, P.; Dervan P. B. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 2110-2122. n) Dervan P. B.; Edelson, B. S.; *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, 13, 284-299. o) Renneberg, D.; Dervan P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5707-5716. p) Du, Y. H.; Huang, J.; Weng, X. C.; Zhou, X. *Curr. Med. Chem.*, **2010**, 17, 173-189.

Establecer las bases moleculares de la interacción selectiva de un tipo de moléculas con los surcos del ADN presenta dificultades. La estrategia que se sigue en general para su diseño, es la preparación de compuestos que puedan establecer enlaces de hidrógeno (EHs) con los distintos nucleótidos en los surcos del *B*-ADN estabilizados también por interacciones carga-carga con el esqueleto de fosfato del ADN y/o por contactos hidrofóbicos. Por último, ha de tenerse en cuenta que la conformación del ligando debe ser tal que se adapte al surco del ADN.⁴

El ADN se diferencia de otras dianas biológicas en la carencia de un sitio de unión estructuralmente bien definido. Este hecho a veces impide, o por lo menos dificulta, la caracterización de un único complejo con el ADN en disolución. Es difícil evitar la interacción múltiple. Por este motivo, la realización de estudios estructurales en complejos con ADN encaminados a dar información sobre las bases moleculares de la interacción es una tarea compleja.

La investigación que se presenta en esta Tesis Doctoral está enmarcada dentro de un proyecto general encaminado al establecimiento de las bases moleculares de la interacción entre carbohidratos y el surco menor de ADN.

En la naturaleza existe una variedad de ligandos de pequeño tamaño que contienen carbohidratos en su estructura, y que se asocian al ADN, interfiriendo en procesos celulares vitales.⁵ La mayoría de estos compuestos son sustratos del surco menor del ADN⁶ y es importante destacar que, en algunos casos, el residuo

⁴ a) Walker, S.; Valentine, K. G.; Kahne, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6428-6429. b) Wemmer, D. E.; Dervan P. B. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 355-361. c) Iida, H.; Jia, G.; Lown J. W. *Curr. Opin. Biotech.* **1999**, *10*, 29-33.

⁵ Moser, H. E. *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2000, 1095-1124.

⁶ a) Kahne, D. *Chemistry and Biology* **1995**, *2*, 7-12. b) Hunziker J.; *Chimia*, **1996**, *50*, 248-256. c) Katahira, R.; Katahira, M.; Yamashita, Y.; Ogawa, H.; Kyogoku, Y.; Yoshida, M. *Nucleic Acid Research* **1998**, *26*, 744-755.

del carbohidrato es el responsable de la selectividad de secuencia del fármaco por el ADN.⁷

Este es el caso, por ejemplo, de la *calicheamicina* γ_1 ,⁸ que es un miembro de la familia de los antibióticos enodiónicos⁹ que se asocia al surco menor del ADN.^{6a} La *calicheamicina* γ_1 está constituida por una unidad bicíclica de enodión unida a un residuo de ariltetrasacárido. (Figura 1)

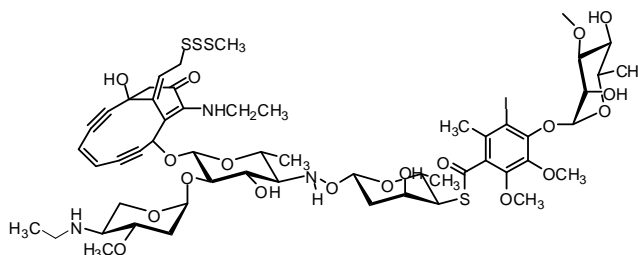


Figura 1. Calicheamicina γ_1

En condiciones reductoras, el enodión experimenta un reordenamiento que produce un dirradical 1,4-arílico, el cual sustrae átomos de hidrógeno del esqueleto de ADN, iniciando la escisión de las hebras.¹⁰ (Figura 2)

⁷ Kren, V.; Rezanka, T. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, 32, 858-889.

⁸ Zein, N.; Sinha, A. M.; McGahren, W. J.; Ellestad, G. A. *Science* **1988**, 240, 1198-1201.

⁹ En la década de 1960 se descubrió este nuevo tipo de toxinas producida por un grupo de bacterias del *Orden Actinomycetales*. En la actualidad se conocen como antibióticos enodiónicos por la existencia de un grupo eno-dión en su esqueleto carbonado. En la familia de los antibióticos enodiónicos se encuentran por ejemplo, las calicheamicinas, las esperamicinas, dinemicinas, neocarcinostatinas...). En inglés es frecuente que se refiera a ellos bajo el nombre genérico de "enediynes".

¹⁰ a) Nicolaou K. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, 1387-1416. b) Wolkenberg, S. E.; Boger, D. L. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2477-2496.

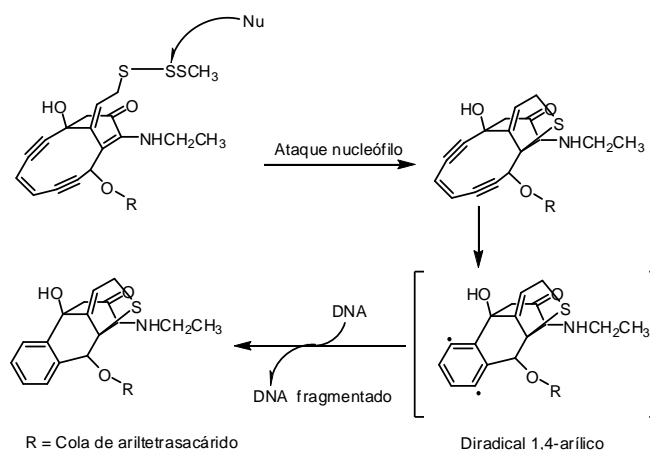


Figura 2. Modo de acción de la Calicheamicina γ_1 .

Estudios acerca de la selectividad de ruptura del ADN por parte de las calicheamicinas mostraron que estos ligandos parecen unirse a una variedad de secuencias de oligopirimidina/oligopurina que contienen tres o más pirimidinas seguidas, como TCCT, TTCA y CTCT.¹¹ Se han realizado numerosos estudios destinados a conocer el origen de la selectividad de las calicheamicinas en su asociación al ADN. Así, mediante técnicas de RMN se ha demostrado que estos antibióticos establecen EHs con las bases y los grupos fosfato en el surco menor, a través de los grupos OH y el grupo etilamino presentes en el fragmento de oligosacárido.¹² Además, los complejos están estabilizados por interacciones

¹¹ Walker, S.; Landovitz, R.; Ding, W. D.; Ellestad, G. A.; Kahne D. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1992**, 89, 4608-4612.

¹² a) Gómez Paloma, K.; Smith, J. A.; Chazin, W. J.; Nicolau, K. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3697-3708. b) Ikemoto, N.; Kumar, R. A.; Ling, T.-T.; Ellestad, G. A.; Danishefsky, S. J.; Patel, D. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1995**, 92, 10506-10510. c) Kalben, A.; Pal, S.; Andreotti, A. H.; Walker, S.; Gange, D.; Biswas, K.; D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 8403-8412.

hidrófobas¹³ y de van der Waals^{12a, 12b} entre las bases pirimidínicas y el ariltetrasacárido. Sin embargo, las interacciones de naturaleza electrostática no parecen jugar un papel importante en la asociación de las calicheamicinas al ADN.¹⁴

En la actualidad, se desconocen las bases moleculares que explican la selectividad de secuencia de estos antibióticos a pesar de que investigaciones realizadas en distintos laboratorios hayan puesto de manifiesto que *la porción de carbohidrato de las calicheamicinas es el elemento principal de unión al ADN y que es responsable, en gran medida, de la selectividad de secuencia.*¹⁵ De hecho, el fragmento de ariltetrasacárido (Figura 3) del antibiótico se asocia a las secuencias diana con una selectividad similar a la calicheamicina y ha resultado ser un ligando efectivo para el reconocimiento de determinadas secuencias de la doble hélice de ADN. Además, es capaz de inhibir la formación de complejos proteína-ADN *in vitro*, desplazar complejos proteína-ADN previamente formados e inhibir, con especificidad de secuencia, el proceso de transcripción *in vivo*.¹⁶

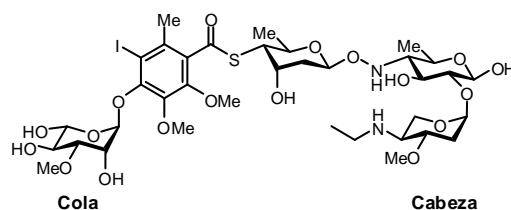


Figura 3. Estructura del ariltetrasacárido de la calicheamicina γ_1

¹³ Ding, W.-D.; Ellestad, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6617-6620.

¹⁴ Krishnamurthy, G.; Brenowitz, M. D.; Ellestad, G. A. *Biochemistry* **1995**, *34*, 1001-1010.

¹⁵ a) Aiyar, J.; Danishefsky, S. J.; Crothers, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7552-7554. b) Nicolau, K. C.; Tsay, S.-C.; Suzuki, T.; Joyce, G. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7555-7557. c) Li, T.; Zeng, Z.; Estévez, V. A.; Baldenius, K. U.; Nicolau, K. C.; Joyce, G. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3709-3715.

¹⁶ Ho, S. N.; Boyer, S. H.; Schreiber, S. L.; Danishefsky, S. J.; Crabtree, G. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, *91*, 9203-9207.

Este descubrimiento dio lugar al diseño de ligandos de ADN cuya estructura está basada en la del oligosacárido de la calicheamicina. Así, se han sintetizado los dímeros covalentes cabeza-cola y cabeza-cabeza del ariltetrasacárido (Figura 4). Ambos dímeros se asocian al ADN con una afinidad 100 veces mayor que la calicheamicina γ_1 .¹⁷

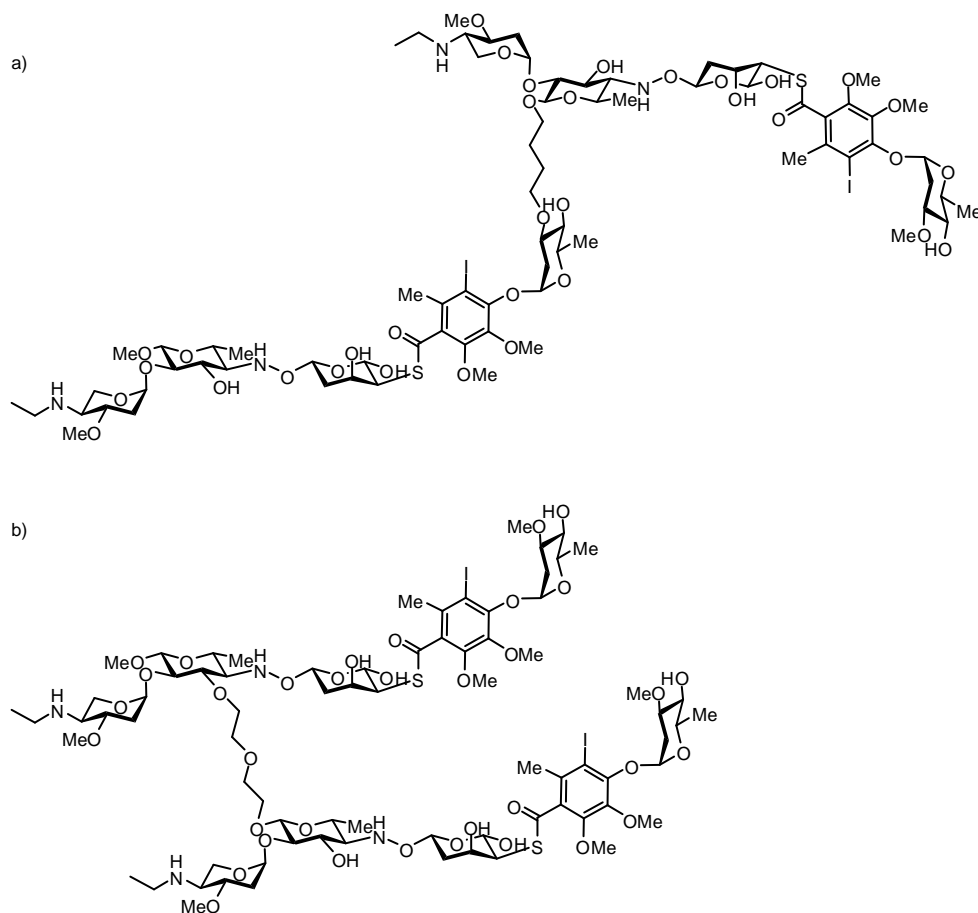


Figura 4. a) Dímero cabeza-cola y b) Dímero cabeza-cabeza del ariltetrasacárido de la calicheamicina

¹⁷ Nicolau, K. C.; Smith, B. M.; Ajito, K.; Komatsu, H.; Gómez-Paloma, L.; Tor, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2303-2304.

La calicheamicina γ_1 fue el primer ejemplo de ligando en que el fragmento de carbohidrato reconoce selectivamente, por sí mismo, determinadas secuencias de ADN¹⁶ y ha abierto un campo de investigación dedicado al estudio de la interacción carbohidrato-ADN en otros antibióticos de naturaleza glicosídica.

Además de las calicheamicinas, existe un elevado número de glicoconjugados que reconocen el ADN y en los que los carbohidratos son esenciales para el reconocimiento.⁷

Éste es el caso del grupo de antibióticos derivados del ácido aureólico, que incluye por ejemplo a la Cromomicina A₃.¹⁸ Éste contiene oligosacáridos que se unen al surco menor del ADN en secuencias ricas de CG. Estudios de RMN demostraron de la Cromomicina A₃ forma un dímero simétrico con la secuencia d(TTGGCCAA) en la que la parte hidrofóbica de la molécula se encuentra cerca de GG:CC.¹⁹ Se ha observado que se produce una distorsión en la hélice de B-ADN cuando se forma el complejo Cromomicina A₃-ADN.^{19, 20}

El trisacárido de la Cromomicina A₃ es esencial para la estabilización del complejo Antibiótico-Mg²⁺ que es el que se une al ADN.²¹ (Figura 5)

¹⁸ a) Gao, X. L.; Patel, D. J. *Biochemistry* **1990**, 29, 10940-10956. b) Leroy, J. L.; Gao, X. L.; Guéron, M.; Patel, D. J. *Biochemistry* **1991**, 30, 5653-5661. c) Banville, D. L.; Keniry, M. A.; Kam, M.; Shafer, R. H. *Biochemistry* **1990**, 29, 6521-6534. d) Van Dyke, M. W.; Dervan P. B. *Biochemistry* **1983**, 22, 2373-2377. e) Fox, K. R.; Howarth, N. R. *Nucleic Acids Res.* **1985**, 13, 8695-714. f) Liu, C.; Chen, F. M. *Biochemistry* **1994**, 33, 1419-1424.

¹⁹ Gao, X. L.; Patel, D. J. *Biochemistry* **1989**, 28, 751-762.

²⁰ Otros ejemplos de antibióticos derivados del ácido aureólico que distorsionan la hélice del B-ADN cuando se forma el complejo antibiótico-ADN a) Banville, D. L.; Keniry, M. A.; Shafer, R. H. *Biochemistry* **1990**, 29, 9294-9304. b) Katahira, R.; Katahira, M.; Yamashita, Y.; Ogawa, H.; Kyogoku, Y.; Yoshida, M. *Nucleic Acids Res.* **1998**, 26, 744-755.

²¹ Silva, D. J.; Kahne, D. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7962-7970.

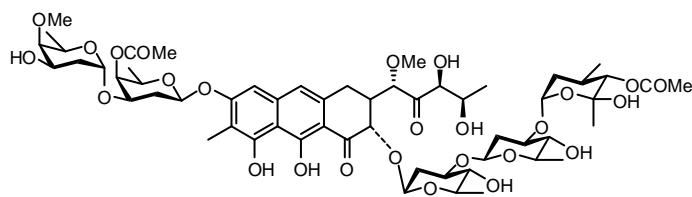


Figura 5. Cromomicina A₃

Una comparación de estos antibióticos con las calicheamicinas revela grandes similitudes en las estructuras de los carbohidratos de ambas familias (la mayoría son 2,6-desoxiazúcares).

Otro ejemplo de glicoconjugados, en los que los carbohidratos se unen a los surcos del ADN mientras que la unidad de areno actúa como intercalante, son las antraciclinas²². Se trata de un conjunto de antibióticos antitumorales de origen bacteriano (la mayoría producidos por *Streptomyces*) que están formadas por un esqueleto tetracíclico aromático policétido unido a L-deoxiazúcares. El mecanismo de acción principal de éstos antibióticos es la inhibición de la topoisomerasa II.^{23, 24} Las antraciclinas más usadas como agentes antitumorales son la daunorrubicina, adriamicina, epirrubicina e idarrubicina. (Figura 6)

²² Shelton, C. J.; Harding, M. M.; Prakash, A. S. *Biochemistry*, **1996**, 35, 7974-7982.

²³ a) Wang, J. C. *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65, 635-692. b) Arcamone, F.; Gassinelli, G. *Curr. Med. Chem.* **1998**, 5, 391-419. c) Kratz, F.; Warnecke, A.; Schmid, B.; Chung, D.; Gitzel, M. *Curr. Med. Chem.* **2006**, 13, 477-523.

²⁴ Minotti, G.; Menna, P.; Salvatorelli, E.; Cairo, G.; Gianni, L. *Pharmacol. Rev.* **2004**, 56, 185-229.

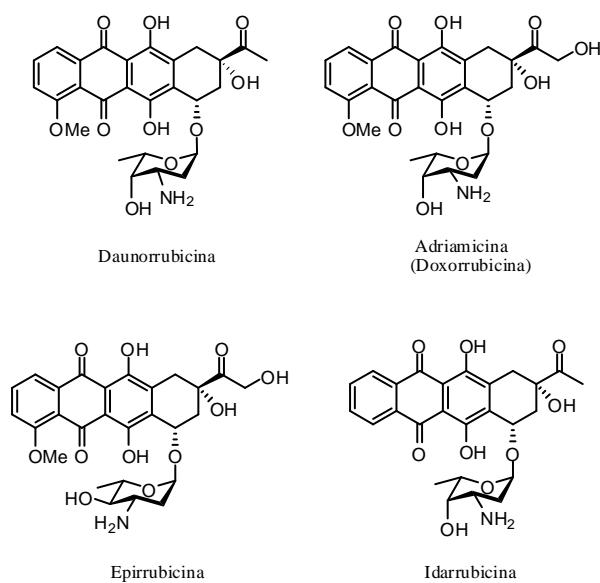


Figura 6. Moléculas pertenecientes a la familia de las antraciclinas: antibióticos antitumorales con carbohidratos cuya diana es el ADN

La importancia del fragmento sacarídico reside en que el L-deoxi-azúcar se sitúa cerca del surco menor del ADN, adyacente a la posición intercalante y juega un importante papel en la formación y estabilización en el complejo ADN-Topoisomerasa II-Antraciclina.²⁵

²⁵ Zunino, F.; Pratesi, G.; Perego, P. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, *61*, 933-938.

La aplicación clínica de las antraciclinas está limitada por su cardiotoxicidad.²⁴ Debido a esto se han llevado a cabo numerosas modificaciones en la unidad del L-deoxiazúcar con el fin de disminuir su toxicidad.²⁶ (Figura 7)

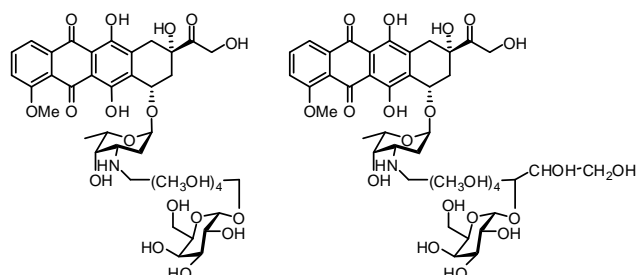


Figura 7. Ejemplos de glicosil derivados de la daunomicina²⁶

Aunque como se ha mostrado, empiezan a acumularse numerosos ejemplos de compuestos naturales, en los que se ha establecido inequívocamente, la interacción carbohidrato-ADN, en la actualidad, las bases moleculares generales de la interacción carbohidrato-ADN no están bien establecidas. Por ello, tiene sentido el diseño y síntesis de modelos que permitan un conocimiento más profundo y detallado del proceso de interacción carbohidrato-ADN.

²⁶ Olsufyeva, E. N.; Tevyashova, A. N.; Trestchalin, I. D.; Preobrazhenskaya, M. N.; Platt, D.; Klyosov, A. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 1359-1367.

Diseño del vector A

El modelo sintético que se está explorando en el grupo de investigación de la Dra. Cristina Vicent²⁷ para conseguir información estructural en disolución sobre los requerimientos generales de la interacción carbohidrato-ADN, se basa en la preparación de un conjunto de glico-oligoamidas cuyos ***diferentes monosacáridos se unen a un fragmento oligoamídico que presenta interacción con el surco menor del ADN con una selectividad de secuencia bien definida.***

Este portador/vector con estructura de oligoamida permitirá aproximar el azúcar a una secuencia particular de ADN gracias a una complejación selectiva. El estudio de distintas moléculas con diferentes carbohidratos previamente diseñados²⁸ y sus complejos con oligonucleótidos de secuencias específicas de ADN permitirá estudiar sistemáticamente el papel del carbohidrato en la interacción. (Figura 8)

²⁷ a) Martin, J. M.; Muñoz, E. M.; Schwergold, C.; Souard, F.; Asensio, J. L.; Jiménez-Barbero, J.; Cañada, J.; Vicent, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9518-9533. b) Peñalver, P.; Samadi, A.; Bosch, P.; Hunter, C. A.; Vicent, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2220-2231. c) Souard, F.; Muñoz, E. M.; Peñalver, P.; Badía, C.; del Villar-Guerra, R.; Asensio, J. L.; Jiménez-Barbero, J.; Vicent, C. *Chem. Eur. J.*; **2008**, *14*, 2435-2442. d) Eva Muñoz, Tesis Doctoral “Una aproximación al estudio carbohidrato-ADN” Facultad de Ciencias de la Universidad de Valladolid, Madrid 2003. e) Pablo Peñalver Puente, Tesis Doctoral: “Glico-oligoamidas, herramientas para el estudio de las fuerzas intermoleculares que rigen el proceso de asociación carbohidrato-ADN” Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid, Madrid 2009.

²⁸ El diseño de los monosacáridos que se emplearán con el fin de conseguir información estructural en disolución sobre los requerimientos generales de la interacción carbohidrato-ADN se explicará más adelante a lo largo de la Introducción.

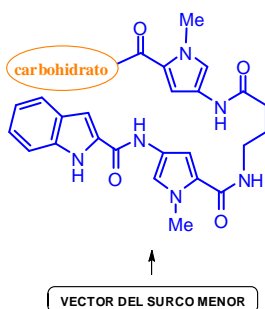


Figura 8. Vector elegido (en azul) para acercar los carbohidratos (en naranja) al surco menor.

De esta manera se pretende evitar:

- Tener que recurrir a modificar carbohidratos naturales que generalmente han requerido síntesis y/o aislamiento complejo.
- El problema de las interacciones múltiples.

La selección del fragmento de oligoamida como vector del surco menor, es decir, el portador selectivo del carbohidrato se inspira en las oligoamidas heteroaromáticas sintéticas preparadas por el Dr. P. B. Dervan. Estas oligoamidas se asocian de manera selectiva a secuencias específicas del surco menor. El diseño racional de las oligoamidas del Dr. P. B. Dervan está basado a su vez en la estructura de los antibióticos naturales distamicina y netropsina.^{1a, 4b} (Figura 9)

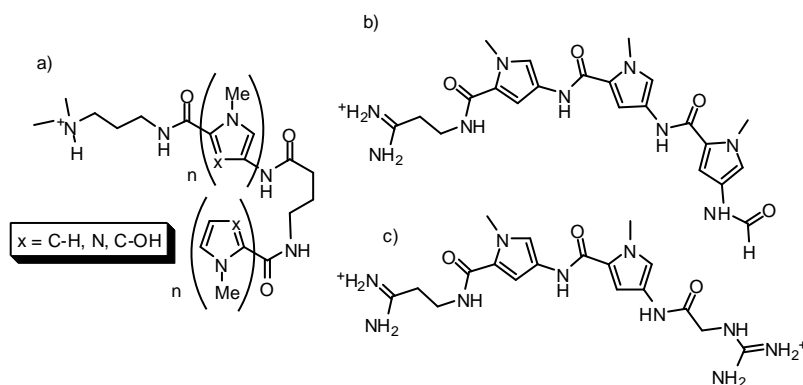


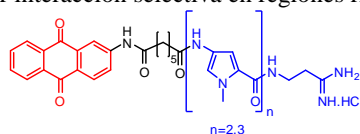
Figura 9. a) Estructura general de las oligoamidas aromáticas del Dr. P. B. Dervan. b) Distamycin c) Netropsin

La distamicina y la netropsina son antibióticos oligopeptídicos naturales con actividad antiviral y antitumoral que se asocian eficazmente en el surco menor del *B*-ADN a secuencias ricas en pares de bases de adenina (A) y timina (T) con constantes de afinidad del orden de $3 \cdot 10^5$ - $2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}$.^{29, 30} (Figura 9)

Ambas poseen una forma plana-arqueada que les permite acomodarse al surco menor del ADN a través del establecimiento de interacciones de tipo Van

²⁹ a) Zimmer, C.; Wähnert, U. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1986**, 47, 31-112. b) Marky, L. A.; Breslauer, K. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, 84, 4359-4363. c) Breslauer, J. G.; Remeta, D. P.; Chou, W.-Y.; Ferrante, R.; Curry, J.; Zaunczkowski, D.; Snyder, J. G.; Luis, A. Marky, L. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, 84, 8922-8926.

³⁰ Las lexitropsinas, derivados de la distamicina y la netropsina, se han utilizado como *vehículos* para transportar agentes antitumorales (por ejemplo, nitrosoureas, benzoyl mostazas, bleomicina, flavinas, acridinas y antraquinonas) hacia determinadas secuencias de ADN, mejorando así su acción^{2f} por interacción selectiva en regiones ricas en pares de bases AT.



Ejemplo de lexitropsina (azul) como vehículo/portador de agentes antitumorales (antraquinona) (rojo) hacia secuencias selectivas del ADN.^{2f}

Der Waals, electrostáticas e interacciones por EHs.³¹ En el proceso de reconocimiento se establecen EHs específicos entre los hidrógenos amídicos de las oligoamidas y los centros aceptores de EHs presentes en el surco menor del ADN. Además, se asocian de modo que el arco interior de las mismas, definido por los hidrógenos amídicos, se sitúa en el interior del surco menor estableciendo EHs con las bases nitrogenadas del ADN mientras que el arco exterior, definido por los grupos carbonilo y metilo de las unidades aromáticas quedan en la zona externa del surco.

La distamicina y la netropsina se asocian al ADN como monómeros; pero la distamicina también interacciona formando dímeros en el estado asociado en exceso de ligando. En el complejo 2:1, los ligandos establecen EHs con cada una de las hebras de la doble hélice de ADN. Cada uno de los monómeros de distamicina se sitúa de modo que el extremo cargado de uno queda enfrente al extremo neutro del otro; de este modo se evitan las repulsiones electrostáticas.³² (Figura 10)

Sin embargo, en el caso de la netropsina, la presencia de los dos extremos cargados en su estructura impide la formación de complejo 2:1 debido a las repulsiones electrostáticas desestabilizantes que se generarían entre los dos ligandos. (Figura 10)

³¹ Lavery, R.; Zalaewska, K.; Pullman, B. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1986**, 3, 1155-1170.

³² a) Pelton, J. G.; Wemmer, D. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1989**, 86, 5723-5727. b) Pelton, J. G.; Wemmer, D. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 1393-1399.

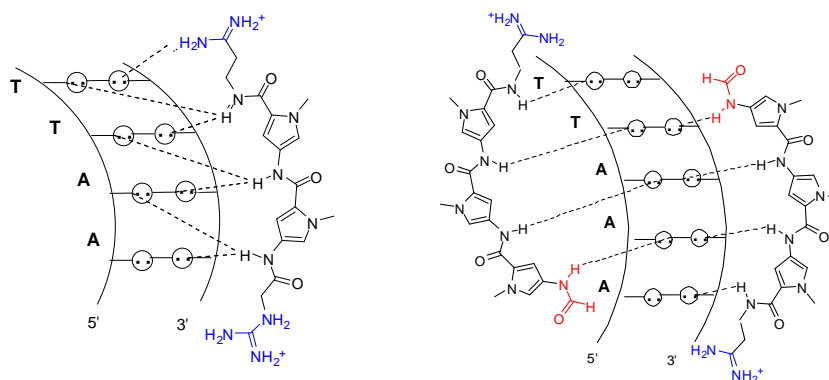


Figura 10. a) Netropsina en estado asociado (En azul se señalan los grupos a los que se deben las repulsiones electrostáticas que impiden la formación de complejos 2:1. b) Monómeros antiparalelos en el estado asociado (2:1) de la distamicina (En azul se señalan los grupos cargados y en rojo los grupos neutros de la distamicina).^{32b}

El reconocimiento de secuencias ricas en **AT** por parte de distamicina y netropsina viene determinado por el establecimiento de EHs específicos entre los hidrógenos amídicos de los antibióticos^{4c, 33} con el oxígeno en posición 2 de **T** y el nitrógeno en posición 3 de **A**. El origen de la selectividad de estos antibióticos por secuencias ricas en **A** y **T** frente a citosina (**C**) y guanina (**G**) se debe al impedimento estérico que hay entre el grupo amino exocíclico de la guanina y el hidrógeno 3 del anillo de pirrol perteneciente al antibiótico.³⁴ (Figura 11)

³³ Kopka, M. L.; Yoon, C.; Goodsell, D.; Pjura, P.; Dickerson, R. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1985**, 82, 1376-1380.

³⁴ Wartell, R. M.; Larson, J. E.; Wells, R. D. *J. Biol. Chem.* **1974**, 249, 6719-6731.

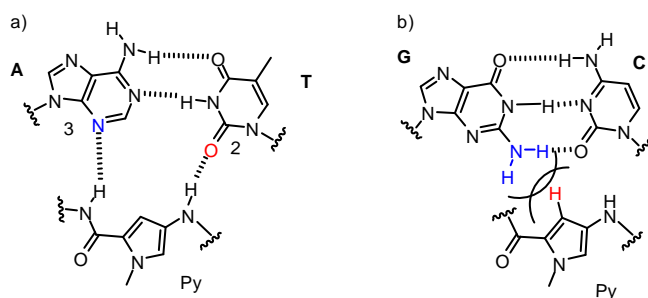


Figura 11. a) EHs específicos entre los hidrógenos amídicos de los antibióticos con el oxígeno en posición 2 de **T** (en rojo) y el nitrógeno en posición 3 de **A** (en azul) b) Impedimento estérico que hay entre el grupo amino exocíclico (en azul) de la **G** y el hidrógeno 3 del anillo de pirrol (Py) perteneciente al antibiótico (en rojo)

El conocimiento a nivel estructural del proceso de interacción de distamicina y netropsina con ADN ha hecho posible el diseño racional de oligoamidas aromáticas que son eficaces ligandos del surco menor del ADN.

El Dr. P. B. Dervan ha racionalizado el diseño de oligoamidas aromáticas, generando un “código de reconocimiento” que permite reconocer selectivamente los distintos pares de bases en el *B*-ADN.

Estas moléculas están constituidas por la combinación de tres aminoácidos aromáticos derivados de pirrol (**Py**), imidazol (**Im**) e hidroxipirrol (**Hp**)³⁵ que permiten reconocer los cuatro pares de bases mediante el establecimiento de EHs específicos entre las bases y los centros dadores y aceptores de EH de dichos aminoácidos. (Figura 12)

³⁵ Además de estos 3 aminoácidos, posteriormente se sintetizaron oligoamidas con otros compuestos aromáticos, como por ejemplo, furano (**Fr**), pirazol (**Pz**): a) Zhan, Z. Y. J.; Dervan, P. B. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 2467-2474. Benzamida (**Bz**), hidroxibenzamida (**Hb**): b) Ellervik, U.; Wang, C. C. C.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9354-9360. Hidroxibenzoimidazol (**Hb**): c) Renneberg, D.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5707-5716. No se encontró ninguna nueva especificidad por secuencias de ADN.

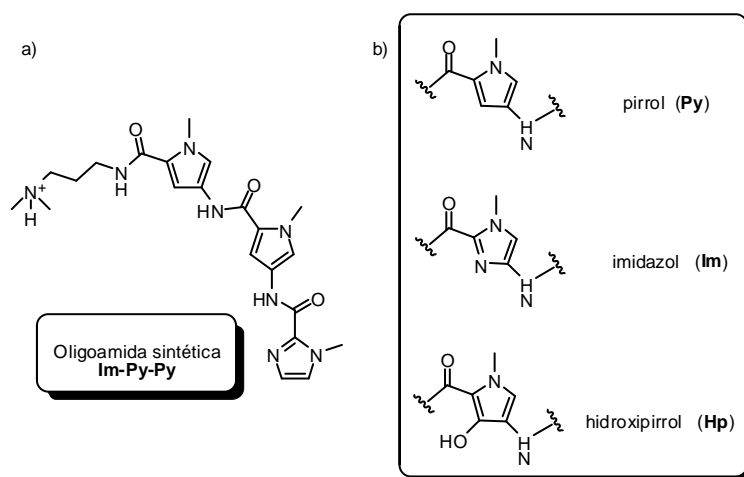


Figura 12. a) Ejemplo de oligoamida sintética (**Im-Py-Py**). b) Aminoácidos aromáticos derivados del Py, Im y Hp.

Así las reglas de reconocimiento establecidas por el Dr. P. B. Dervan son:

- El Py reconoce indistintamente **A** y **T** porque los centros aceptores de EH de estas bases en el surco menor (O-2 en **T** y N-3 en **A**) son topológicamente indistinguibles. (Figura 13)

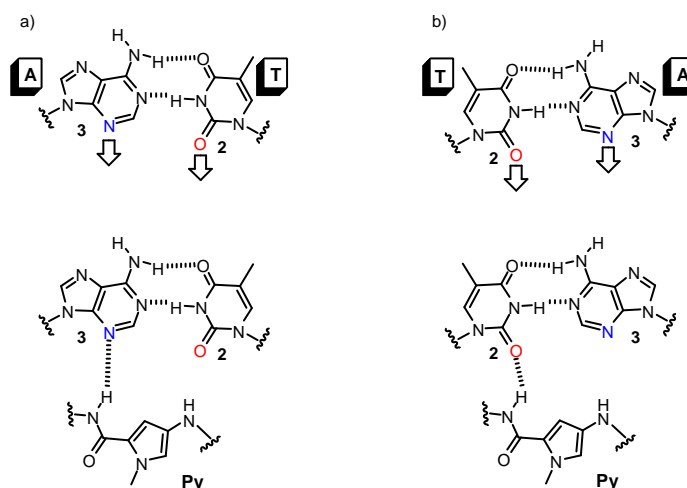


Figura 13. a) Reconocimiento de **A** por parte de una unidad de Py. b) Reconocimiento de **T** por parte de una unidad de Py.

➤ El anillo de Hp reconoce preferentemente **T** frente a **A** ya que se establece un EH bifurcado entre el O-2 de la **T** y los centros dadores de EH del ligando: el hidroxilo en posición 3 y el NH amídico del aminoácido.³⁶ (Figura 14)

³⁶ La preferencia de **T** frente a **A** se basa en la capacidad del oxígeno de T para establecer dos EHs, ya que dispone de dos pares electrónicos sin compartir. El nitrógeno de A, sin embargo, tiene un par electrónico no compartido y sólo puede participar en un EH. a) Kielkopf, C. L.; White, S.; Szewczyk, J. W.; Turner, J. M.; Baird, E. E.; Dervan, P. B.; Rees, D. C. *Science* **1998**, 282, 111-115. b) Kielkopf, C. L.; Bremer, R. E.; White, S.; Szewczyk, J. W.; Turner, J. M.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Mol. Biol.* **2000**, 295, 557-567.

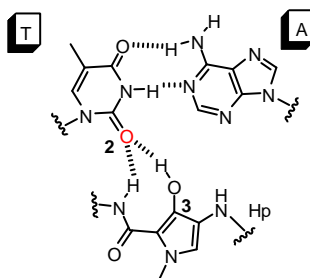


Figura 14. Reconocimiento de **T** por parte de una unidad de Hp

- El Im reconoce preferentemente **G** porque posee un nitrógeno en posición 3 que establece un EH con el grupo amino exocíclico de la **G**.³⁷ (Figura 15)

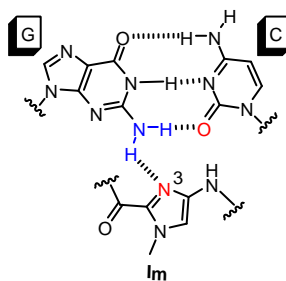


Figura 15. Reconocimiento de **G** por parte de una unidad de Im

Estas oligoamidas aromáticas tipo Im-Py-Py, forman dímeros en el estado asociado al igual que la distamicina.^{38, 36b} El reconocimiento selectivo de una secuencia determinada de ADN depende del par de residuos aromáticos

³⁷ En el caso del Im no existe impedimento estérico entre el N en posición 3 del aminoácido y el NH-2 exocíclico de G. En el caso del Py si existe impedimento estérico entre el H-3 del aminoácido y el NH-2 exocíclico de G. a) Kopka, M. L.; Goodsell, D. S.; Han, G. W.; Chiu, T. K.; Lown, J. W.; Dickerson, R. E. *Structure* **1997**, 5, 1033-1046.

³⁸ Wade, W. S.; Mrksich, M.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 8783-8794.

enfrentados en el dímero. Así, un Im, frente a un Py, reconoce el par de bases **G/C**, mientras que un Py, frente a un Im, es selectivo de **C/G**.³⁷ Dos Py enfrentados reconocen tanto **A/T** como **T/A**. La discriminación entre estas dos parejas se consigue introduciendo el tercer aminoácido, Hp, ya que éste, enfrentado a un pirrol, es selectivo de **T/A** (figura 16).³⁹

- La combinación de Py/Im reconoce preferentemente al par **CG**.
- La combinación de Py/Hp reconoce preferentemente al par **AT**.
- La combinación de Hp/Py reconoce preferentemente al par **TA**.
- La combinación de Im/Py reconoce preferentemente al par **GC**.

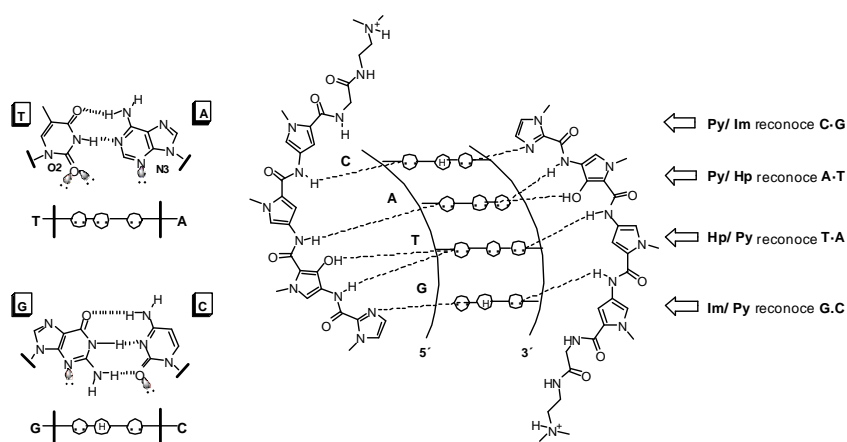


Figura 16. Representación gráfica del “Código de reconocimiento” de Dervan.

De esta manera, a partir de los trabajos del Dr. P. B. Dervan, se pueden diseñar oligoamidas sintéticas que se asocien selectivamente a una determinada secuencia de ADN por combinación de estos tres aminoácidos aromáticos.

³⁹ a) White, S.; Braid, E. E.; Dervan, P. B. *Biochemistry*, **1996**, 35, 12532-12537. b) Urbach, A. R. J.; Szewczyk, J. W.; White, S.; Turner, J. M.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11621-11629.

Estudios de footprinting⁴⁰ han determinado que estas oligoamidas sintéticas se asocian a la secuencia diana de ADN con una orientación preferente en la que el extremo N terminal de la oligoamida se sitúa en el extremo 5' de la hebra de ADN mientras que el extremo C terminal se sitúa en 3'. (Figura 17)

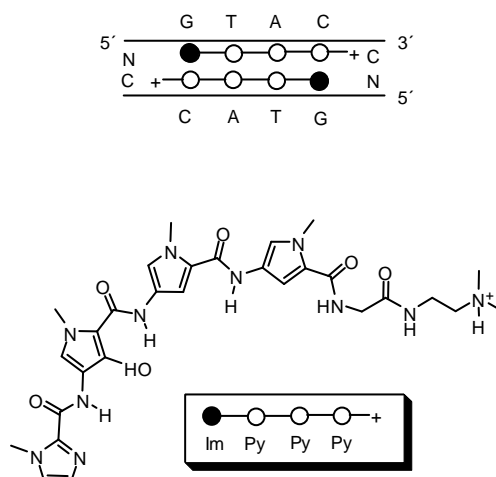


Figura 17. El extremo N terminal de la oligoamida se sitúa en el extremo 5' de la hebra de ADN y el extremo C terminal se sitúa en 3'.

Con el objetivo de incrementar la afinidad y la especificidad por el ADN de las oligoamidas, el grupo del Dr P. B. Dervan desarrolló varios modelos de dímeros covalentes.⁴¹

Estos compuestos tienen la estructura que se comenta a continuación:

- a) Dímeros en los que las dos hebras se unen mediante una cadena alquílica por los N de los pirroles (oligoamidas *H-pin*^{41a, 42}). (Figura 18.a)

⁴⁰ White, S.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8756-8765.

⁴¹ a) Mrksich, M.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3663-3664. b) Mrksich, M.; Parks, M. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7983-7988.

b) Dímeros en los que las dos hebras se unen a través de una cadena del derivado del ácido γ -amino butírico por sus extremos C y N terminal (oligoamidas con estructura en horquilla).^{41b} (Figura 18.b).

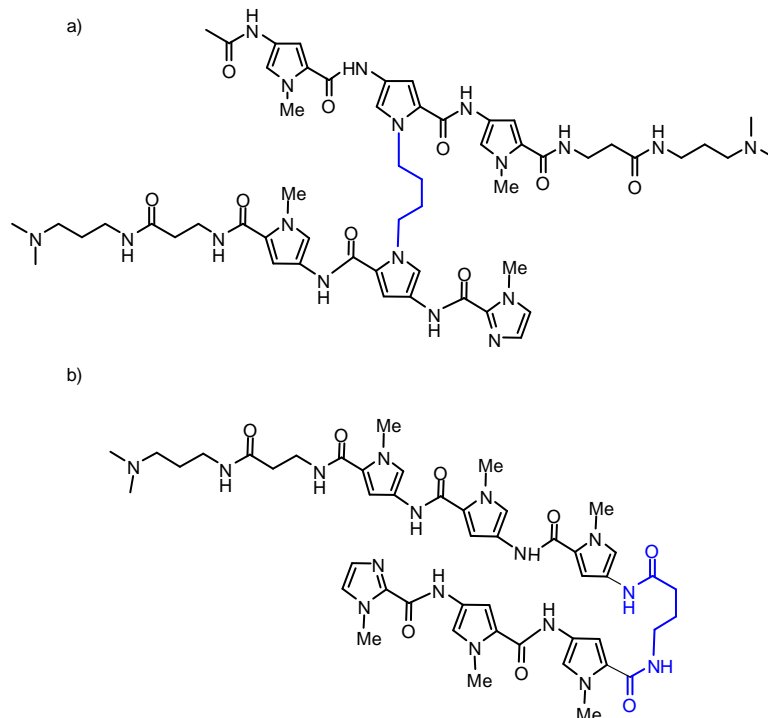


Figura 18. a) Ejemplo de oligoamida *H-pin*^{41a} b) Ejemplo de oligoamida con estructura en horquilla^{41b}

En los casos en que dos segmentos oligoamídicos se encuentran unidos covalentemente, se encontró un aumento de la afinidad y de la especificidad comparado con el dímero no covalente, ya que se evita la generación de distintos

⁴² Se ha mantenido la nomenclatura empleada por el grupo del Dr. Peter Dervan para este tipo de compuestos.

modos de asociación en función de la disposición relativa que las dos hebras pueden adoptar en el surco menor.⁴³

El diseño más eficaz resultó ser aquel en el que las dos hebras se unen a través de una cadena de ácido γ -amino butírico por sus extremos C y N terminal (figura 18.b).⁴³ Este conector γ se dispone en el surco menor del B-ADN y facilita el giro para que ambas hebras queden enfrentadas,^{4b} favoreciendo además la orientación N_{terminal}-C_{terminal} de la oligoamida en la dirección 5'-3' de la hélice del ADN. (Figura 19)

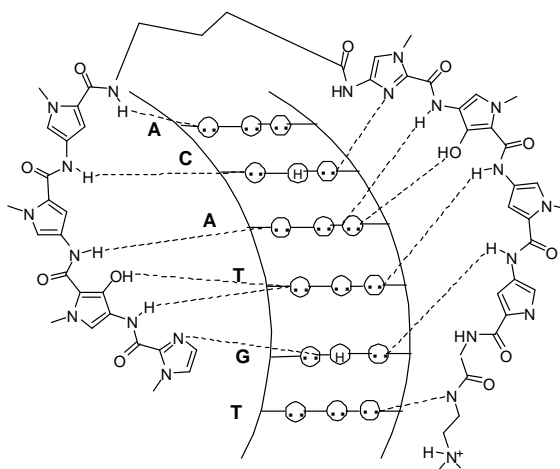


Figura 19. Dos hebras de las oligoamidas tipo Dervan unidas a través de una cadena de ácido γ -amino butírico por sus extremos C y N terminal

Por su parte, el grupo del Dr. Wemmer determinó mediante estudios de RMN que este dímero covalente adopta una conformación en horquilla en el

⁴³ Greenberg, W. A.; Braid, E. E.; Dervan, P. B. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 796-805.

estado asociado.⁴⁴ Dicha conformación ha sido caracterizada por la presencia de nOes inter-hebra entre los anillos aromáticos enfrentados en el dímero cabeza-cola.⁴⁵ (Figura 20) Además, se han encontrado nOes intra-hebra entre las resonancias correspondientes a los protones en posición 3 de los anillos de pirrol y los protones amídicos contiguos a estos en la misma hebra. Esta proximidad determina que la horquilla presenta una conformación plana-arqueada donde los protones amídicos se sitúan en el arco interior mientras que los carbonilos y los metilos de los anillos aromáticos se sitúan en el arco exterior. (Figura 20)

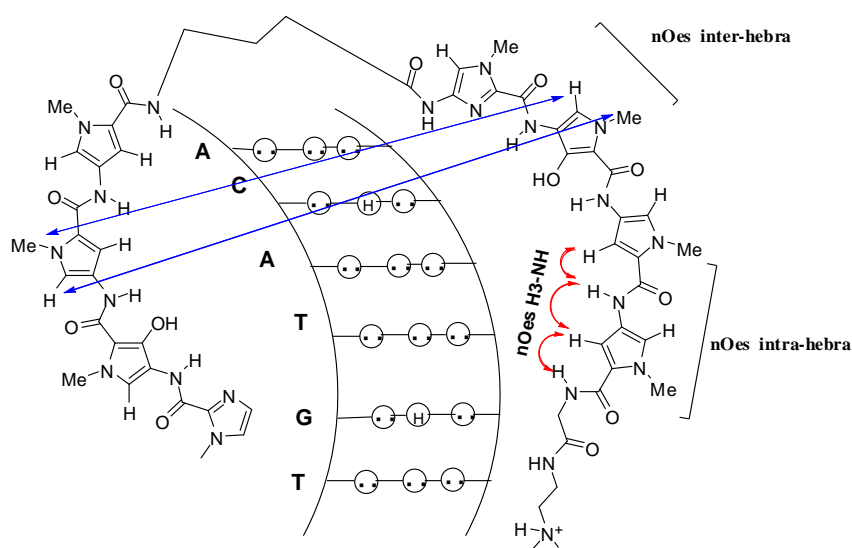


Figura 20. nOe's que caracterizan la estructura en horquilla en el estado asociado para el dímero covalente de Dervan con conector de ácido γ -aminobutírico⁴⁴ En azul se muestran los nOe's inter-hebra y en rojo los intra-hebra.

⁴⁴Hawkins, C. A.; Peláez de Clairac, R.; Dominey, R. N.; Baird, E. E.; White, S.; Dervan, P. B.; Wemmer, D. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5235-5243.

⁴⁵Dos moléculas de distamicina en el estado asociado adoptan una disposición similar.

La elevada afinidad y selectividad que estas oligoamidas presentan por su secuencia diana^{2f, 46} ha llevado al diseño de oligoamidas que se asocian a secuencias cada vez mayores observando que un incremento en el número de heterociclos en cada una de las hebras del dímero aumenta la afinidad y la selectividad en secuencias de ADN.^{47, 48}

También se han llevado a cabo estudios termodinámicos con las oligoamidas Im-Py-Py- γ -Py-Py-Py- β -Dp e Im-Im-Py- γ -Py-Py-Py- β -Dp y diferentes oligonucleótidos, demostrando que la estabilidad del proceso de reconocimiento oligoamida-ADN tiene origen entálpico.⁴⁹

Resumiendo, en los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios estructurales y de afinidad de las oligoamidas aromáticas del Dr. P. B. Dervan. Se ha podido determinar de manera precisa cómo estos ligandos se asocian al surco menor del ADN. Por último, se ha determinado el origen de la selectividad de los mismos por su secuencia diana.

La eficacia de estos ligandos para reconocer una secuencia específica hacen de estas oligoamidas unos candidatos ideales para ser utilizados como ligandos que acerquen el carbohidrato al surco menor del ADN.

⁴⁶ a) White, S.; Turner, J. M.; Szewczyk, J. W.; Baird, E. E.; Dervan P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 260-261. b) Doss, R. M.; Marques, M. A.; Foister, S.; Chenoweth, D. M.; Dervan P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9074-9079.

⁴⁷ Estos compuestos son capaces de inhibir la formación de complejos proteína-ADN: Bremer, R. E.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Chemistry and Biology*, **1998**, *5*, 119-133.

⁴⁸ Estudios *in vitro* (a) Filipowsky, M. E.; Kopka, M. L.; Brazil-Zison, M.; Lown, J. W.; Dickerson, R. E. *Biochemistry*, **1996**, *35*, 15397-15410. b) Gottesfeld, J. M.; Neely, L.; Trauger, J. W.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Nature*, **1997**, *387*, 202-205. c) Dickinson, L. A.; Gulizia, R. J.; Trauger, J. W.; Baird, E. E.; Mosier, D. E.; Gottesfeld, J. M.; Dervan, P. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1998**, *95*, 12890-12895) Estudios *in vivo* (d) Henikoff, S.; Vermaak, D. *Cell*, **2000**, *103*, 695-98. e) Janssen, S.; Durussel, T.; Laemmli, U. K. *Mol. Cell*. **2000**, *6*, 999-1011) demuestran que las oligoamidas son permeables a la pared celular y son capaces de inhibir el proceso de transcripción a concentraciones del orden subnanomolar.

⁴⁹ a) Pilch D. S.; Pokler, N.; Gelfand, C. A.; Law, S. M.; Breslauer, K. J.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 8306-8311. b) Pilch D. S.; Poklar, N.; Baird, E. E.; Dervan, P. B.; Breslauer, K. J. *Biochemistry*, **1999**, *38*, 2143-2151.

Así, basándonos en los antecedentes mencionados, se eligió un fragmento de oligoamida que contiene dos unidades de *N*-metil-pirrol carboxamida (Py) unidas covalentemente, cabeza-cola, mediante un residuo de ácido γ -amino butírico (-Py- γ -Py-) (Figura 21). Dicho fragmento se selecciona como fragmento mínimo de oligoamida que podría conservar no sólo la interacción en horquilla con el surco menor del *B*-ADN sino que también se espera que conserve la especificidad por el par de bases **AT/TA** ya que la oligoamida posee dos pirroles enfrentados.⁵⁰

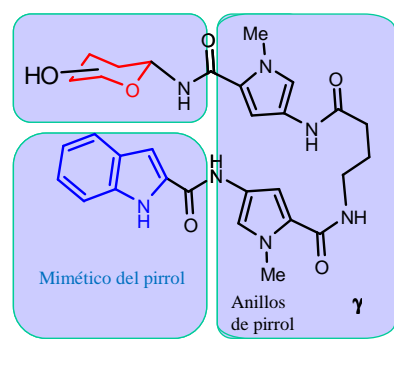


Figura 21. Estructura general de las glico-oligoamidas diseñadas.

Por otra parte, la molécula objetivo contiene un derivado de indol, con el grupo carboxílico en posición 2 que actuará como mimético del aminoácido derivado del pirrol. Es de esperar que mantenga la conformación arqueada característica de las oligoamidas en el estado asociado. (Figura 22)

⁵⁰ Según las reglas de reconocimiento establecidas por el Dr. P. B. Dervan.

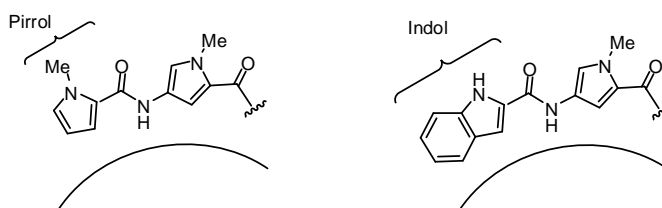


Figura 22. Aminoácido derivado del pirrol de las oligoamidas del Prof. P. B. Dervan y derivado de indol escogido (como mimético del aminoácido derivado del pirrol)

Hay que tener en cuenta que la disposición con la que las oligoamidas tipo Dervan se asocian al ADN está bien definida:⁴⁴ el arco interior del ligando (que contiene los grupos NH) se adentra en el surco, en contacto con las bases nitrogenadas del ADN, mientras que el arco exterior (que contiene los grupos CH₃) se sitúa en la zona externa del surco, próximo a los grupos fosfato del ADN. (Figura 23)

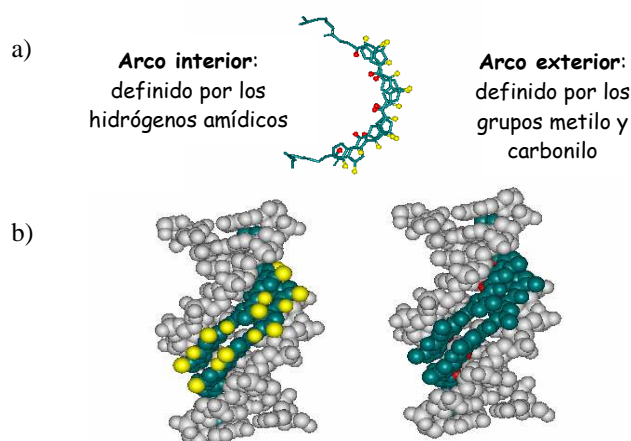


Figura 23. a) Dímero de oligoamida Im-Py-Py-Py. En la figura se muestran los arcos interior y exterior que vienen definidos por los hidrógenos amídicos (en rojo) y los grupos metilo y carbonilo (en amarillo) respectivamente. b) Estructura cristalina del dímero Im-Py-Py-Py con ADN. En la figura se muestran que los grupos metilo y carbonilo (en

amarillo) quedan en la zona externa del surco menor mientras que los hidrógenos amídicos (en rojo) quedan en la región interna del mismo.

Se espera que la estructura general **Azúcar-Py- γ -Py-Ind** presente una elevada participación de su conformación en horquilla en disolución. Esta elevada participación de la conformación se vería favorecida tanto por interacciones π - π entre los anillos del pirrol como por la interacción entre el carbohidrato y el indol (interacciones CH- π).⁵¹ Para que esta última interacción sea eficaz, la disposición relativa que el carbohidrato adopta respecto del fragmento de oligoamida es un elemento clave (Figura 24). Además, se espera que esta conformación sea la que adopte el ligando **Azúcar-Py- γ -Py-Ind** cuando forme el complejo con el ADN. (Figura 24)

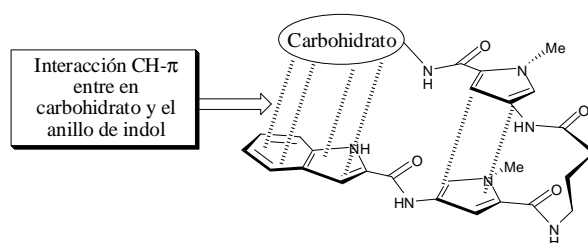


Figura 24. Representación esquemática de las interacciones CH- π entre el carbohidrato y un anillo de indol en la conformación plegada de una glico-oligoamida.

⁵¹ a) Davis, A. P.; Wareham, R. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2978-2996. b) Fernández-Alonso, M. D. C.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7379-7386. c) Terraneo, G.; Potenza, D.; Canales, A.; Jiménez-Barbero, J.; Baldrige, K.K.; Bernardi, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2890-900. d) Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Siebert, H.-C.; Laynez, J.; Poveda, A.; Nieto, P. N.; Soedjanaamadja, U. M.; Gabius, H.-J.; Jimenez-Barbero, J. *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 529-543. e) Jimenez-Barbero, J.; Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Poveda, A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 549-555. f) Muraki, M. *Protein Pept. Lett.* **2002**, *9*, 195-209. g) Laughrey, Z. R.; Kiehna, S. E.; Riemen, A. J.; Waters, M. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 14625-14633. h) Kiehna, S. E.; Laughrey, Z. R.; Waters, M. L. *Chem. Commun.* **2007**, 4026-4028. i) Morales, J. C.; Reina, J. J.; Díaz, I.; Aviñó, A.; Nieto, P. M.; Eritja, R. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7828-7835; j) Vandenbussche, S.; Díaz, D.; Fernández-Alonso, M. C.; Pan, W.; Vincent, S. P.; Cuevas, G.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J.; Bartik, K. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7570-7578.

En nuestro caso, es importante resaltar que la configuración de los centros asimétricos de la piranosa, su unión a la oligoamida y la conformación que adopta el carbohidrato respecto del resto de la molécula fijará qué lados de la piranosa quedan orientados hacia el arco interior y cuáles hacia el exterior en el complejo con el ADN.

Los monosacáridos que se han seleccionado para formar parte de las glico-oligoamidas son monoconformacionales (la conformación más estable es, en general, aquella en la que la mayoría de los sustituyentes se disponen en posición ecuatorial).⁵²

Se han seleccionado los azúcares de la serie D: β -D-xilopiranososa, β -D-galactopiranososa y β -D-glucopiranososa cuya conformación más estable es 4C_1 ; además se ha seleccionado un monosacárido de la serie L: β -L-Fuc, cuya conformación más estable es 1C_4 .⁵³

El anillo de piranosa confiere a los monosacáridos un carácter tridimensional. Así, el carbohidrato se puede asemejar a un ortoedro formado por seis caras. La cara C-2/C-3 vendría definida por los carbonos 2 y 3 del anillo de piranosa y la cara opuesta C-5/O estaría definida por el carbono 5 y el oxígeno endocíclico. (Figura 25)

Además se definirían la cara α y β , perpendiculares a las dos anteriores. Éstas vienen definidas por la posición del heteroátomo exoanomérico. Así, en la serie D la cara α es aquella en la que el heteroátomo exoanomérico está por debajo del plano del anillo y la cara β es aquella en la que éste se sitúa por encima del plano del anillo. Y en la serie L, la cara α es aquella en la que el heteroátomo

⁵² Robyt, J. F. *Essential of Carbohydrate Chemistry*, Ed. Springer, **1998**, 36-39.

⁵³ Para definir las conformaciones de los anillos de cinco y seis miembros de los monosacáridos, ver: IUPAC-IUB, Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) *Eur. J. Biochem.* **1980**, *111*, 295-298

exoanómico está por encima del plano del anillo y la cara β es aquella en el que éste se sitúa por debajo del plano del anillo.

En el caso particular en la que el carbohidrato se une a la oligoamida por la posición anomérica mediante un enlace amidoglicosídico, esta anotación utilizada nos permite definir tanto la cara que se enfrenta al indol (α o β) como las caras que se orientan hacia los arcos exterior e interior de la glico-oligoamida (cara C-2/C-3 y cara C-5/O). (Figura 25)

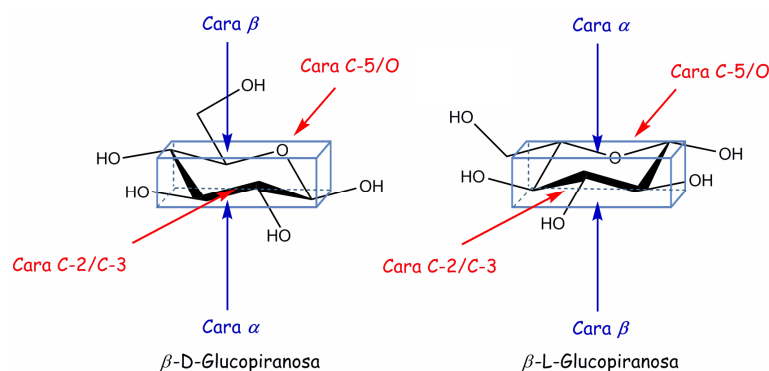


Figura 25. Ejemplo de las caras C-2/C-3 y C-5/O (en rojo) y caras α y β (en azul) que se pueden definir en un anillo de piranosa tanto en la serie D (β -D-glucopiranososa) como en la serie L (β -L-glucopiranososa) al encajar un carbohidrato en un ortoedro (en azul).

Por lo tanto, la configuración de los centros estereogénicos del anillo de piranosa y la elección de la posición a través de la cual el carbohidrato se une a la oligoamida es fundamental en el diseño de las glico-oligoamidas, ya que determina la orientación del azúcar respecto al resto de la molécula. En principio, se puede seleccionar cualquiera de los OHs del azúcar para unirlos a la oligoamida. Sin embargo, no todas las posibilidades conducen a la orientación deseada del carbohidrato en la molécula.

Para determinar cuál era la posición carbohidrato-oligoamida más adecuada, se llevaron a cabo estudios de mecánica molecular de glico-oligoamidas constituidas por carbohidratos sencillos.⁵⁴ La modelización se realizó partiendo de una conformación del fragmento de oligoamida en horquilla. En los modelos estudiados, el carbohidrato se unió a la oligoamida en distintas posiciones del anillo de piranosa. Los resultados indicaron que la unión del carbohidrato a través de los OH en posición axial conduce a una disposición perpendicular del anillo de piranosa respecto del indol. En esta situación, no se favorece la presencia de interacciones CH- π entre el carbohidrato y el indol (figura 26.a). Sin embargo, la unión a través de los grupos OH en posición ecuatorial conduce a una disposición paralela del carbohidrato respecto del indol y, por lo tanto, se maximiza la superficie de contacto entre ambos. Además, se mantiene la geometría arqueada de la molécula (figura 26.b).

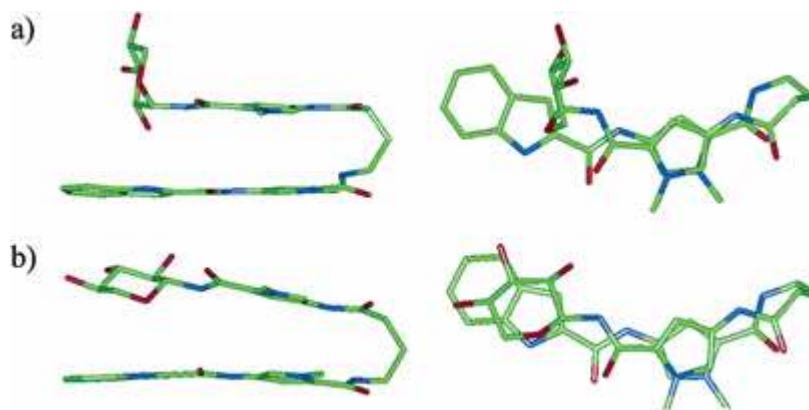


Figura 26. a) Modelo molecular de α -D-Xyl-Py- γ -Py-Ind b) Modelo molecular de β -D-Xyl-Py- γ -Py-Ind

⁵⁴ Las modelizaciones de las glico-oligoamidas se realizó empleando el campo de fuerzas AMBER* con MACROMODEL 5.5, utilizando el modelo GB/SA para mimetizar el disolvente acuoso.

Por todo ello, se optó por preparar glico-oligoamidas en las que el azúcar se une a una oligoamida por el carbono 1 y con una configuración anomérica ecuatorial, ya que permite situar cualquier carbohidrato sencillo paralelo al indol, independientemente de la naturaleza del mismo.

Siguiendo el diseño mencionado se prepararon las siguientes glico-oligoamidas Tipo I: **β -Gal-Py- γ -Py-Ind (I)**, **β -Glc-Py- γ -Py-Ind (II)**, **β -Xyl-Py- γ -Py-Ind (III)**, **α -Xyl-Py- γ -Py-Ind (IV)** y **β -L-Fuc-Py- γ -Py-Ind (V)**.^{27a} (Figura 27)

Las diferencias estructurales existentes entre estos azúcares permiten iniciar un estudio sistemático de cómo afectan las configuraciones de los centros asimétricos del carbohidrato a la conformación de las glico-oligoamidas y a su interacción con el ADN.

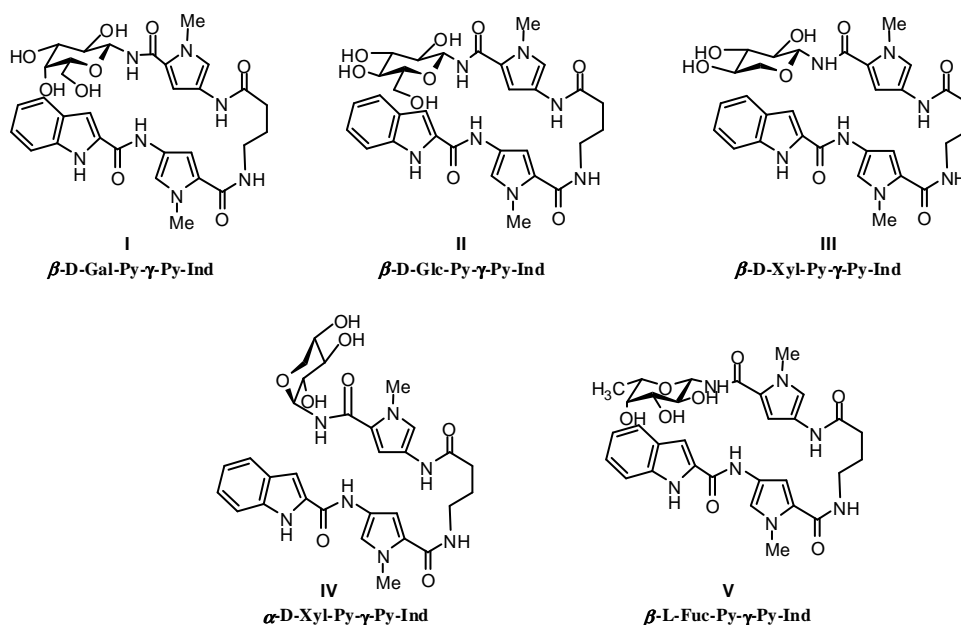


Figura 27. Glico-oligoamidas Tipo I (I-V)

Además se prepararon los modelos de la **hebra azúcar** y la **hebra indol** de la estructura **Azúcar-Py- γ -Py-Ind**,⁵⁵ (Figura 28) así como modelos de oligoamida sin carbohidrato en su estructura (Figura 29).

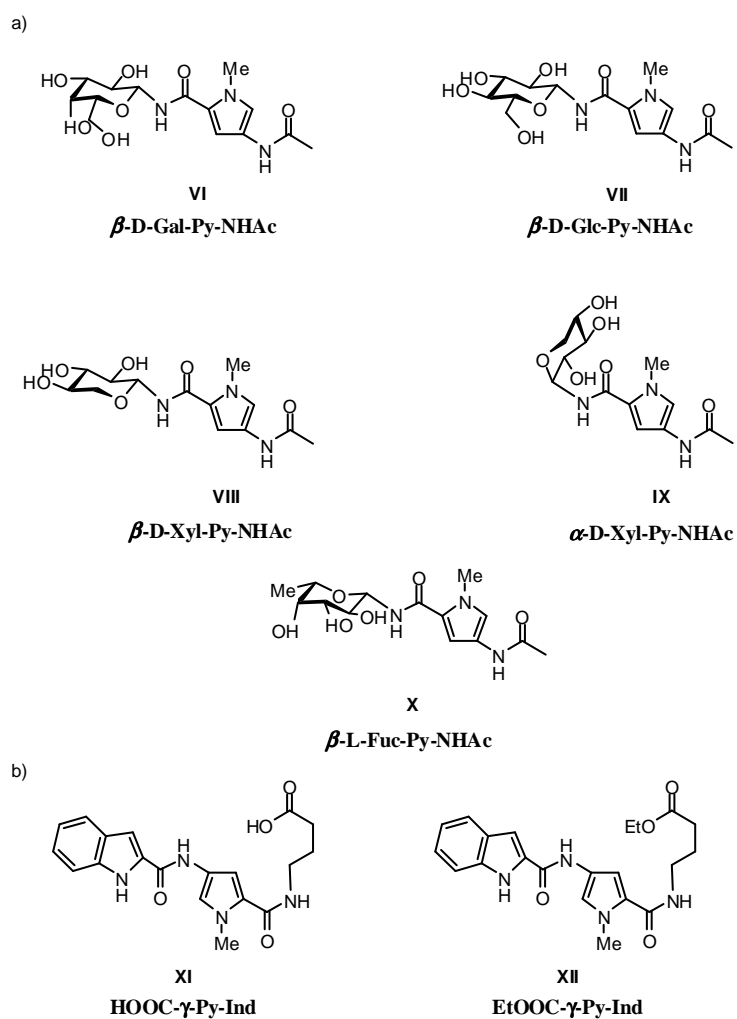


Figura 28. Modelos de conformación abierta: a) Modelos de la hebra azúcar (**VI-X**) b) Modelos de la hebra indol (**XI y XII**)

⁵⁵ Para ver la definición de hebra azúcar y hebra indol ver el apartado *Nomenclatura*.

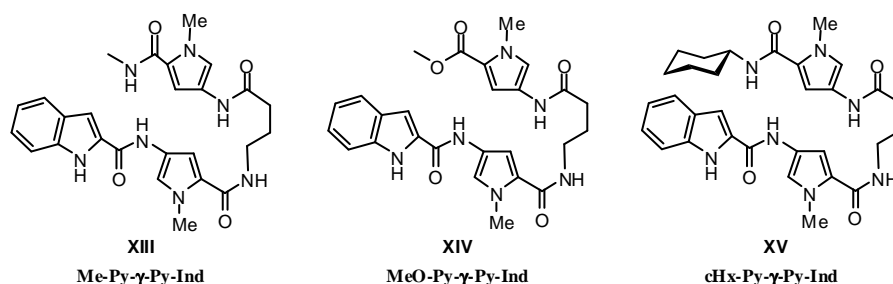


Figura 29. Modelos de oligoamida sin carbohidrato en su estructura

Nuestro grupo de trabajo ha llevado a cabo estudios conformacionales en disolución de las glico-oligoamidas **I-V**. Los compuestos **hebra azúcar (VI-X)** y la **hebra indol (XI y XII)** se han usado como modelos no plegados en estos estudios conformacionales.

Los estudios conformacionales realizados por RMN^{27a} y por fluorescencia^{27b} de las glico-oligoamidas **I-V** en estado libre en disolución acuosa⁵⁶ muestran la presencia de conformación horquilla en estos ligandos.⁵⁷ El protocolo que se ha seguido es el siguiente:

- a) Se han comparado los desplazamientos químicos de las glico-oligoamidas **I-V** con los modelos de conformación abierta de la **hebra azúcar (VI-X)** o de la **hebra indol (XI)** para estimar los desplazamientos químicos inducidos que serían característicos de una estructura en horquilla.

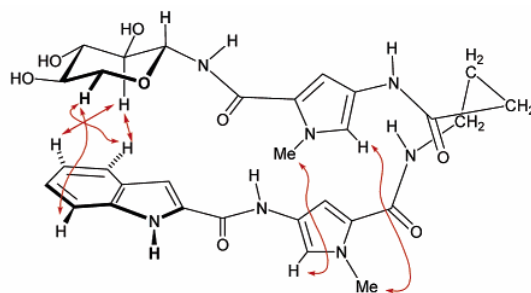
⁵⁶ Estudios previos de los grupos del Dr. Wemmer y del Dr. Dervan⁴⁴ en compuestos tipo Im-Py-Py-γ-Py-Py-β-Dp muestran que estos ligandos del ADN adoptan una conformación de horquilla en estado asociado. Sin embargo, estas moléculas no han sido estudiadas en estado libre. (Figura 20)

⁵⁷ Estos estudios se han realizado en agua y D₂O. La conformación de estas moléculas puede ser distinta en otros disolventes (disolventes apolares).

Así, se registraron espectros de ^1H -RMN en D_2O y H_2O /acetona- $[\text{D}_6]$ =3/1 de los compuestos **I-XI** en las mismas condiciones de concentración y temperatura (10^{-4} M, 26°C) y se compararon los desplazamientos químicos. Estos estudios mostraron la existencia de $\Delta\delta^{58}$ significativos entre cada glico-oligoamida y sus correspondientes modelos de conformación abierta. En todas las glico-oligoamidas se observó un apantallamiento significativo de las resonancias de los pirroles A y B respecto de los modelos de cadena abierta. También se observaron apantallamientos significativos de las resonancias pertenecientes al carbohidrato, donde se midieron $\Delta\delta$ de hasta -0.48 ppm (H-1, glico-oligoamida **II**). El apantallamiento de las resonancias de los pirroles se puede justificar por la proximidad cara a cara que hay entre estos anillos aromáticos en la conformación plegada. El apantallamiento de las resonancias del carbohidrato estaría originado por la proximidad de éste al anillo de indol. Estos $\Delta\delta$ están de acuerdo con la existencia de un porcentaje de estructura en horquilla en disolución.

b) Se han realizado experimentos nOe's de las glico-oligoamidas **I-V**. Se han detectado nOes inter hebra entre el carbohidrato y el indol y entre los pirroles A y B; lo cual sugiere de nuevo la presencia de un porcentaje de conformación en horquilla en el estado libre. (Figura 30)

⁵⁸ $\Delta\delta$ (ppm) = $\delta_{\text{glico-oligoamida}} - \delta_{\text{azúcar-py-NHAc}}$ ó $\Delta\delta$ (ppm) = $\delta_{\text{glico-oligoamida}} - \delta_{\text{HO-}\gamma\text{-Py-Ind}}$ dependiendo de la resonancia que se trate.



III

Figura 30. nOes inter hebra de **β -D-Xyl-Py- γ -Py-Ind (III)** en el estado libre en H₂O/D₂O (15%)

c) Se han realizado estudios conformacionales de las glico-oligoamidas **I-V** por fluorescencia en estado libre. Se realizó la comparación de los rendimientos cuánticos⁵⁹ del fluoróforo del indol de éstas (**I-V**) con los rendimientos cuánticos del modelo de conformación abierta de la **hebra indol (XII)**.^{27b}

Las glico-oligoamidas **I-V** presentan una significativa reducción en sus valores de rendimientos cuánticos de fluorescencia respecto del modelo de la **hebra indol XII** (15 veces menor). Esta **disminución de los rendimientos cuánticos de fluorescencia** es un dato experimental que **confirma que existe una proximidad intramolecular entre el carbohidrato y el indol en las glico-oligoamidas**. La proximidad del carbohidrato produce una desactivación de la emisión de fluorescencia del indol; sugiriendo la presencia de un porcentaje de conformación en horquilla en estado libre.

⁵⁹ El valor de rendimiento cuántico se calcula representando la integral de la intensidad de fluorescencia emitida frente a la absorbancia de una muestra desconocida y comparando con el valor de rendimiento cuántico de un estándar. El estándar elegido fue el bisulfato de quinina 0.1 M en H₂SO₄ ($\Phi_f = 0.54$) porque emite en una región similar a nuestros ligandos. Se seleccionó una longitud de onda de excitación $\lambda = 310$ nm.

Por otra parte, también se han estudiado los complejos que forman las glico-oligoamidas con polímeros de ADN (*ct*-ADN, *poli*-AT...), tanto por RMN como por fluorescencia, así:

- a) Se han realizado experimentos TR-NOESY⁶⁰ del complejo glico-oligoamida-macromolécula de *ct*-ADN. Los nOes intra hebra observados sugieren una estructura de la horquilla también en el estado asociado. (Figura 31)

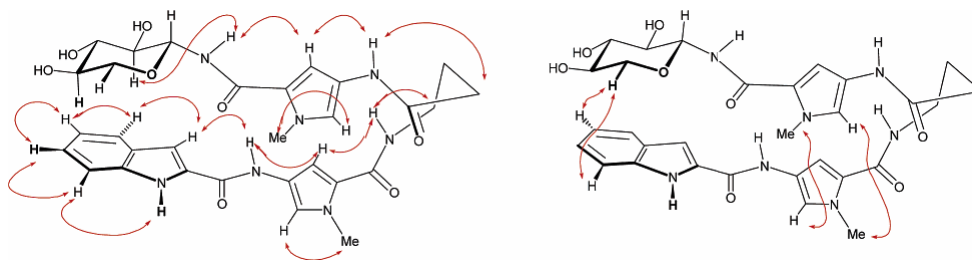


Figura 31. nOes intra e inter hebra del complejo β -D-Xyl-Py- γ -Py-Ind (III)-*ct*-ADN en H₂O/D₂O (15%)

- b) Se ha puesto a punto un método de **cuantificación** de la interacción glico-oligoamida/polímero de ADN por espectroscopia de fluorescencia⁶¹ y se determinaron las constantes de asociación para los complejos que forman las glico-oligoamidas (β -D-Xyl-Py- γ -Py-Ind (III), α -D-Xyl-Py- γ -Py-Ind (IV), β -D-Gal-Py- γ -Py-Ind (I), β -D-Glc-Py- γ -Py-Ind (II) y β -L-Fuc-Py- γ -Py-Ind (V)) con ADN (*ct*-ADN (60% AT y 40% CG), *poly*-(dA-dT) (100% AT) y ml-ADN

⁶⁰ a) Vogtherr, M.; Peters, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6093-6099. b) Asensio, J. L.; Espinosa, J. F.; Dietrich, H.; Canada, F. J.; Schmidt, R. R.; Martin-Lomas, M.; Andre, S.; Gabius, H. J.; Jimenez-Barbero, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8995-9000. c) Haselhorst, T.; Espinosa, J. F.; Jimenez-Barbero, J.; Sokolowski, T.; Kosma, P.; Brade, H.; Brade, L.; Peters, L. *Biochemistry* **1999**, *38*, 6449-6459.

⁶¹ Para citas generales de descripción de la técnica ver: a) Lakowicz, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*, Plenum Press, New York, **1999**. Para la aplicación de la técnica a la determinación de interacción ligando-ADN ver referencia 2e.

(72% CG y 28% AT).^{27b} Así como para los complejos formados con compuestos sin el carbohidrato en su estructura (**Me-Py- γ -Py-Ind** (XIII), **MeO-Py- γ -Py-Ind** (XIV) y **cHx-Py- γ -Py-Ind** (XV)).

Este estudio cuantitativo de la interacción condujo a los siguientes resultados:

- ✓ El fragmento de oligoamida mínimo necesario para que se dé la interacción es **-NHCO-Py- γ -Py-Ind**.
- ✓ El grupo NH amídico en el extremo C terminal es fundamental para la interacción.⁶²
- ✓ El **-NHCO-Py- γ -Py-Ind** es un buen vehículo de carbohidratos hacia secuencias ricas en pares de bases AT/TA.
- ✓ Las **glico-oligoamidas I-V** estudiadas son ligandos neutros con afinidades por *ct*-ADN, *ml*-ADN y *poly*(dA-dT) del orden de $(10^3 - 10^4) \text{ M}^{-1}$, $(10^3 - 10^4) \text{ M}^{-1}$ y $(10^5 - 10^7) \text{ M}^{-1}$ respectivamente.
- ✓ Las **glico-oligoamidas I-V** son ligandos neutros del surco menor del ADN selectivos de secuencias ricas en AT.
- ✓ El **carbohidrato** modula la interacción de las **glico-oligoamidas I-V** con las distintas moléculas de ADN, produciendo cambios en la estabilidad de los complejos de 2 kcal mol^{-1} .

Los objetivos de esta Tesis Doctoral engarzan en este punto del proyecto de investigación. Los buenos resultados de interacción obtenidos con esta primera serie de glico-oligoamidas (**I-V**) hicieron absolutamente necesario el desarrollo de una metodología sintética muy general para la obtención rápida de una mayor diversidad de glico-oligoamidas, de manera que se puedan satisfacer las necesidades del proyecto. De esta manera podrían obtenerse una amplia familia de glico-oligoamidas, que contienen el vector A en su estructura, con diversos

⁶² MeOOC-Py- γ -Py-Ind no interacciona con ninguno de los modelos de ADN poliméricos.

carbohidratos y estudiar su interacción con el ADN. Una vez entendido el modo de unión del vector $\text{-Py(A)-}\gamma\text{-Py(B)-Ind}$, podría empezarse a establecer un entendimiento más profundo de las bases moleculares de la interacción carbohidrato-ADN, basándonos en las diferencias encontradas en la unión de las distintas glico-oligoamidas con el ADN.

Diseño del vector B

Adicionalmente, una posible mejora de la eficacia en la interacción de las glico-oligoamidas que contienen el vector A en su estructura sería la obtención de glico-oligoamidas di o multi-valentes, que contienen en su estructura el vector B, a partir de sus precursores. Esto se puede conseguir con ligeras modificaciones en la estructura de las glico-oligoamidas monovalentes y en la estrategia sintética previamente desarrollada.

Como ya se ha mencionado, para aumentar la afinidad de las oligoamidas, Dervan ha recurrido a la formación de dímeros covalentes. Así, se ha demostrado que dímeros unidos γ -cola⁶³ (Figura 32) y γ - γ ⁶⁴ (Figura 33) tienen una excelente afinidad y especificidad por el ADN.

⁶³ a) Herman, D. M.; Braid, E. E.; Dervan, P. B. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 975-983. b) Kers, I.; Dervan, P. B. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3339-3349.

⁶⁴ Weyermann, P.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6872-6868.

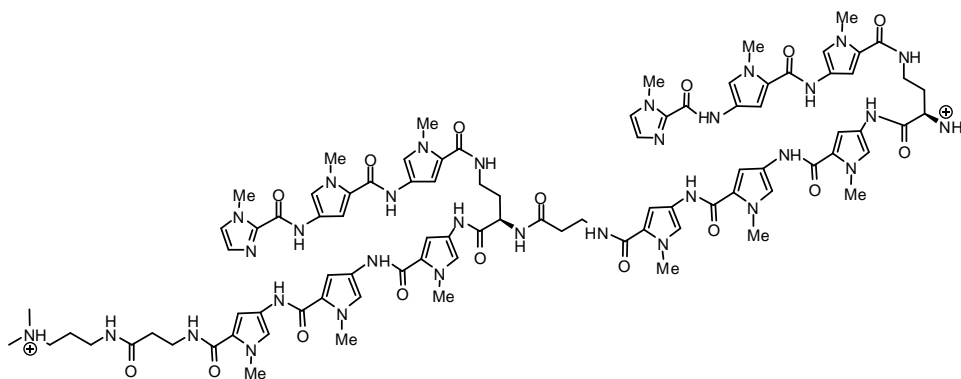


Figura 32. Ejemplo de dímero de oligoamida unido γ -cola⁶³

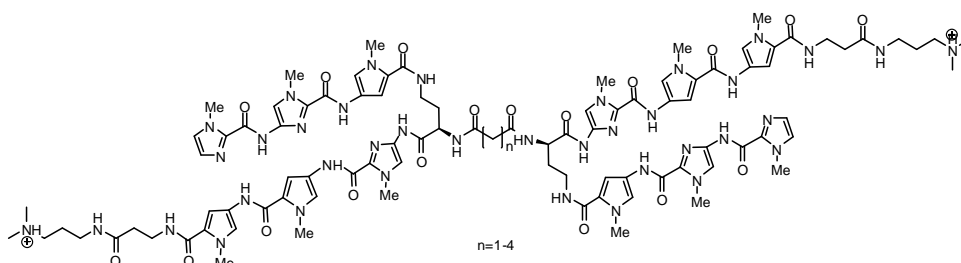


Figura 33. Ejemplo de dímero de oligoamida unido γ - γ ⁶⁴

El concepto de multivalencia hace referencia a la habilidad de una molécula que contiene múltiples sitios de unión de unirse a otra molécula (normalmente de mayor peso molecular, como pueden ser enzimas, ácidos nucleicos, etc) mediante múltiples interacciones no-covalentes. Las interacciones multivalentes resultan altamente específicas, induciendo estabilidad

termodinámica y cinética. Éstas controlan importantes procesos biológicos, como por ejemplo, procesos de adhesión celular.⁶⁵

Para comprender los procesos de interacción de los ligandos multivalentes es necesario tener en cuenta el concepto de cooperatividad.⁶⁶ Ésta se fundamenta en la observación experimental de que, en general, la unión de un primer ligando con su receptor afecta a la afinidad de un segundo ligando con el mismo. En términos generales, la cooperatividad se puede clasificar en:

- Cooperatividad positiva: la afinidad del segundo ligando aumenta con respecto al primero.
- Cooperatividad negativa: la afinidad del segundo ligando disminuye respecto al primero.
- No cooperatividad: la afinidad de los dos ligandos es la misma.

La multivalencia conlleva a que los ligandos se pueden unir a la macromolécula de diferentes modos. Por ejemplo, en el caso de ligandos del ADN divalentes, se pueden unir a la doble hélice de ADN de diferentes maneras, según se muestra en la figura 34.⁶⁷

⁶⁵ Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2755–2794.

⁶⁶ a) Ercolani, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 16097-16103. b) Badjicä, J. D.; Nelson, A.; Cantrill, S. J.; Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38, 723-732.

⁶⁷ Tanada, M.; Tsujita, S.; Sasaki, S. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 125-134.

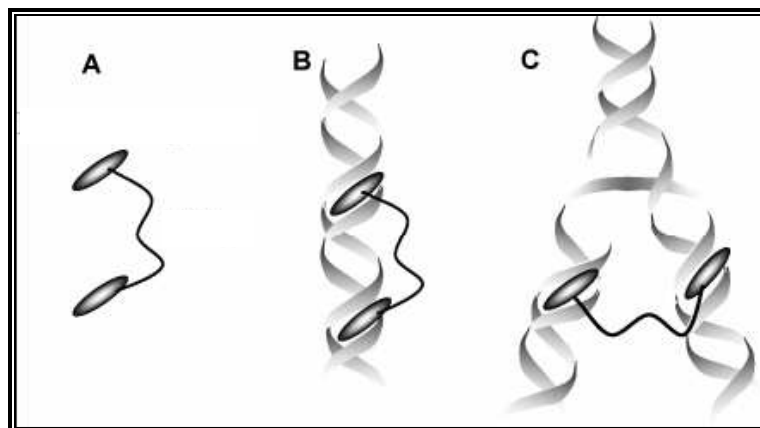


Figura 34. Concepto general del diseño de ligandos bivalentes. **A)** Estructura general del ligando bivalente. **B)** Interacción entre dos zonas próximas de la hélice de ADN. **C)** Interacción entre sitios distantes del ADN.⁶⁷

El grupo del Dr. P. B. Dervan ha sintetizado los dímeros de oligoamidas PW12, PW13 y PW14 (figura 35C)⁶⁸ que se une a dos surcos menores no contiguos del ADN del nucleosoma⁶⁹ de manera específica. (Figura 35)

⁶⁸ Edayathumangalam, R. S.; Weyermann, P.; Gottesfeld, J. M.; Dervan, P. B.; Luger, K. *PNAS*, **2004**, *101*, 6864-6869.

⁶⁹ En células eucariotas la mayoría del ADN se encuentra en forma de cromatina. La cromatina es el conjunto de ADN e histonas que se encuentra en el núcleo de las células eucariotas y que constituye el cromosoma eucariótico. Las unidades básicas de la cromatina son los **nucleosomas**. Éstos se encuentran formados por ADN, (aproximadamente 146 **pares de bases** de longitud (el número depende del organismo)), asociados a un complejo específico de 8 proteínas, las histonas nucleosómicas (octámero de histonas). Para ver interacciones de ligandos con cromatina: Millard, J. T. *Biochimie*, **1996**, *78*, 803-816.

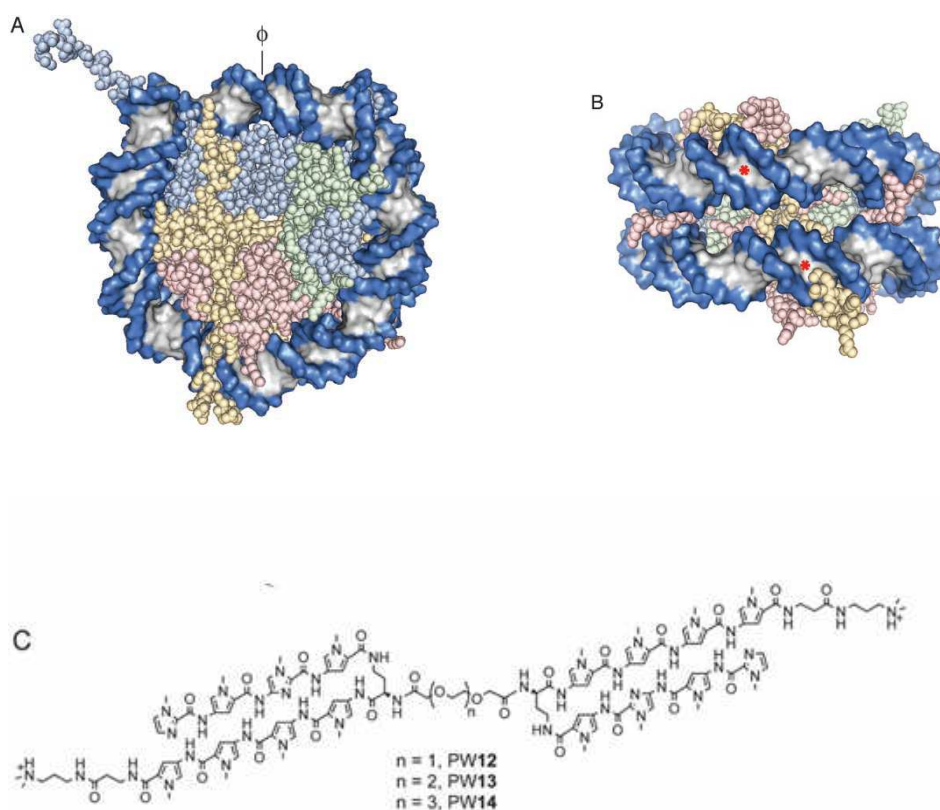


Figura 35. a) Estructura del nucleosoma: el ADN muestra en los colores azul y blanco y las proteínas e histonas a las que se asocia se muestran: H2A, amarilla; H2B, roja; H3, azul; H4, verde. b) Misma estructura del nucleosoma vista desde otra perspectiva. Los surcos a los que se unen los dímeros de oligoamidas se muestran con asteriscos de color rojo. c) Estructura de los dímeros de oligoamidas sintetizados en el grupo del Dr. P. B.

Dervan⁶⁸

En el grupo de la Dra. Cristina Vicent, se ha realizado un diseño de ligandos **di** y **multivalentes** partiendo de la estructura básica de las **glico-oligoamidas**. Este diseño racional está basado en datos estructurales de los

complejos de glico-oligoamidas que contienen en su estructura el vector A con polímeros de ADN. Se trata de modificar las glico-oligoamidas con estructura de vector A, sin afectar al modo de interacción de la unidad de glico-oligoamida con el surco menor del ADN. Para su diseño, se han tenido en cuenta los resultados obtenidos de los experimentos de tipo TR-NOESY^{27a, 27c} y STD^{27c, 70} realizados en los complejos de las glico-oligoamidas con *ct*-ADN. (Figura 36).

Los experimentos TR-NOESY permitieron concluir que las glico-oligoamidas establecen sus complejos con *ct*-ADN en la conformación en horquilla que se muestra en la figura 36.

Por otra parte, los experimentos STD puestos a punto en nuestro laboratorio han puesto de manifiesto que la horquilla se asocia al surco menor del ADN en una disposición tal que, el arco que contiene los grupos NHs se encuentra hacia el interior del surco menor y el arco donde se encuentran los grupos metilo se encuentra hacia el exterior del surco menor. La netropsina tiene también esta forma de unirse al ADN. (Figura 36)

El experimento STD se ha realizado seleccionando resonancias de los protones de ADN que quedan orientados hacia dentro (H1') y hacia afuera (H4', H5', H5'') del surco menor de manera que la transferencia de saturación al ligando nos da la información sobre que hidrógenos de las glico-oligoamidas quedan en el complejo orientados hacia el interior y hacia el exterior del mismo. Los resultados se muestran en la figura 36, donde aparecen señalados en azul los hidrógenos de las glico-oligoamidas que quedan orientados hacia el exterior del surco menor y en rojo aparecen señalados los hidrógenos de las glico-oligoamidas que quedan orientados hacia el interior.

⁷⁰ Para descripción de la técnica: a) Krishnan, V. V. *Curr. Anal. Chem.* **2005**, *1*, 307-320. b) Meyer, B.; Peters, T. *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 890-918; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 864-890. Para aplicaciones de interacción ligando-ADN: c) Di Micco, S.; Bassarello, C.; Bifulco, G.; Riccio, R.; Gomez-Paloma, L. *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 230-234; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 224-228. Nuestro caso: ver referencia 27.c.

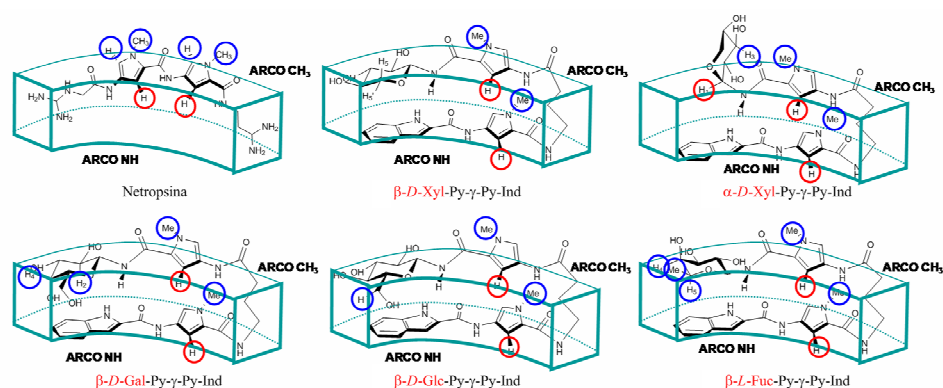


Figura 36. Resultados obtenidos de los TR-NOESY y STD de los complejos glico-oligoamida-*ct*-ADN

Estos resultados indican que la modificación en la estructura general de las glico-oligoamidas, que contienen en su estructura el vector A, que conduce a una menor alteración de los residuos que interaccionan directamente con el surco menor del ADN son los metilos de los pirroles, los cuales quedan orientados hacia el exterior del surco menor en el complejo.

En base a los datos experimentales, se ha decidido modificar el grupo metilo presente en el nitrógeno del pirrol más próximo al azúcar. La idea es introducir en esta posición cadenas alquílicas con el fin de poder modificar el extremo de la cadena, (figura 37) bien uniendo una segunda glico-oligoamida modificada (para formar ligandos divalentes) o bien introduciendo otro fragmento orgánico con el fin de acceder a ligandos polivalentes (por ejemplo, nanopartículas). Esto nos llevaría a obtener lo que hemos denominado glico-oligoamidas que contienen en su estructura el vector B.

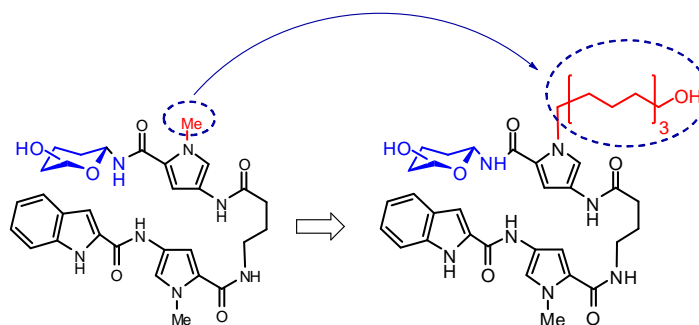


Figura 37. Posición donde se van a modificar las glico-oligoamidas con estructura de vector A para obtener las glico-oligoamidas con estructura de vector B

Diseño de miméticos de glico-péptidos

Además de la preparación de ligandos di y multivalentes, otra posible extensión de la aplicación de las oligoamidas podría ser la preparación de miméticos de glicopéptidos, introduciendo un aminoácido entre el carbohidrato y el vector **-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**. La estructura sintética desarrollada permite el acceso a compuestos del tipo: **Carbohidrato-aminoácido-Py(B)- γ -Py(A)-Ind** (figura 38).

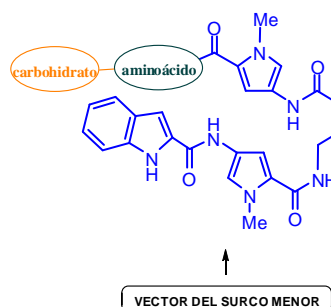


Figura 38. Vector elegido (en azul) para llevar el glico-péptido (aminoácido en verde y el carbohidrato en naranja) al surco menor del ADN.

En la actualidad, en el campo de la glicobiología se ha producido un avance con el desarrollo de métodos de aislamiento y purificación de glicoproteínas nucleares. En particular se han aislado proteínas que contienen residuos de *N*-acetilglucosamina (*O*-GlcNAc) unidos al hidroxilo de L-serina (L-Ser) o L-treonina (L-Thr). Siendo esta una modificación post-traslacional de las proteínas.

Se ha demostrado el papel fundamental que la *N*-acetilglucosamina (*O*-GlcNAc) juega en el control de la transcripción del ADN.⁷¹ En determinados factores de transcripción la unión β de *N*-acetilglucosamina (*O*-GlcNAc) al hidroxilo de L-serina (L-Ser) o L-treonina (Thr) modula la transcripción del ADN.⁷² Por ejemplo, en el caso de PDX-1, la modificación por O-GlcNAc está asociada a un aumento de la secreción de insulina.^{72d}

La O-GlcNAc glicosilación y la fosforilación son modificaciones post-traslacionales de la proteínas nucleares que están muy relacionadas. Dichas modificaciones, a veces, se intercambian en el mismo residuo de la proteína (Ser y Thr) y otras veces aparecen simultáneamente en residuos cercanos. Aún no se conoce con exactitud como cambia la actividad de algunas proteínas dependiendo de que estén O-glicosiladas o fosforiladas.⁷³ (Figura 39)

⁷¹ a) Vosseller, K.; Sakabe, K.; Wells, L.; Hart, G. W.; *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 851-857; b) Zachara, N. E.; Hart, G. W.; *Chem. Rev.* **2002**, 102, 431-438.

⁷² a) Hiromura, M.; Choi, C. H.; Sabourin, N. A.; Jones, H.; Bachvarov, D.; Usheva, A. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 14046-14052. b) Kuo, M.; Zilberfarb, V.; Gangneux, N.; Christeff, N.; Issad, T. *Biochimie* **2008**, 90, 679-685. c) Zachara, N. E.; Hart, G. W. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, **2006**, 1761, 599-561. d) Issad, T.; Kuo, M. *Cell*, **2008**, 19, 380-389.

⁷³ Comer, F. I.; Hart, G. W. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 29179-29182.

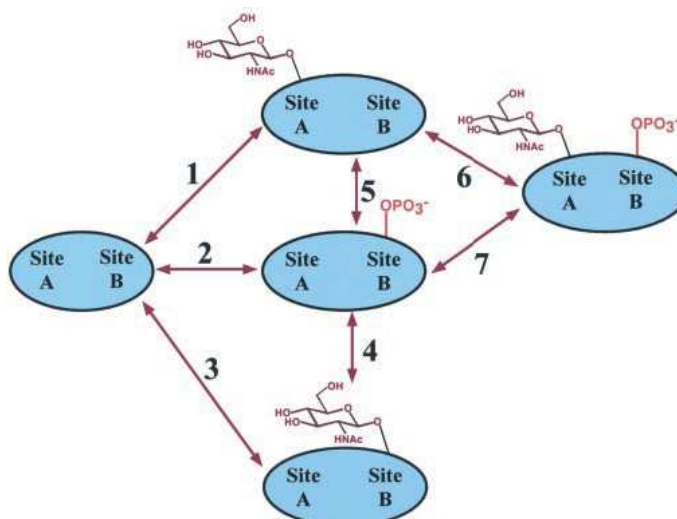


Figura 39. Esquema de las múltiples posibilidades de glicosilación y fosforilación de dos sitios de unión (A y B) en una proteína.⁷³

Una sección del proyecto que desarrolla la Dra. Vicent tiene como objetivo el estudio de la modificación post-translacional de L-Ser o L-Thr *O*-(β -GlcNAc) en relación con su interacción con el ADN, así como su relación con la fosforilación del mismo residuo o un residuo cercano. Usaremos una aproximación que consiste en la modificación tanto del vector A **-Py- γ -Py-Ind** (selectivo de secuencias AT/TA), como del vector B **-Py[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py-Ind**, con el epítipo que modifica la glicoproteína.

Este epítipo de las glicoproteínas unido a los vectores A o B genera miméticos de glicopéptidos de estructura general (*O*- β -GlcNAc-L-Thr-Py[R]- γ -Py-Ind (Figura 40) o *O*- β -GlcNAc-L-Ser-Py[R]- γ -Py-Ind).

Se pretende acercar el epítipo al surco menor del ADN y estudiar su papel en la interacción glicoproteína-ADN con un modelo sencillo y sintético.

Además, para su síntesis, emplearemos como metodología sintética puesta a punto en el grupo de investigación de la Dra. Cristina Vicent en el transcurso de esta Tesis Doctoral para el caso de las glico-oligoamidas Tipo I.

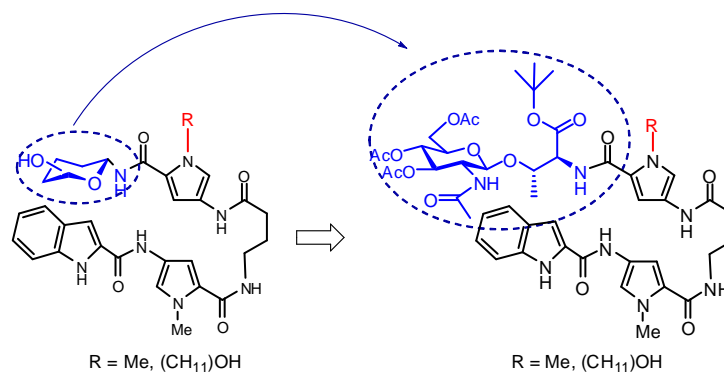


Figura 40. Posición donde se va a modificar la oligoamida para obtener ***O*-β-GlcNAc-L-Thr-Py[R]-γ-Py-Ind**

Como conclusión, en esta Tesis Doctoral, por un lado, se va a desarrollar un esquema sintético que permita obtener de manera eficaz a un conjunto de **glico-oligoamidas monovalentes** que contengan en su estructura el **vector A** y una serie de **carbohidratos** convenientemente escogidos. La caracterización de los complejos de dichas glico-oligoamidas con oligonucleótidos convenientemente diseñados aportará información sobre las bases moleculares de la interacción **carbohidrato-ADN**.

Por otro lado, modificando la estructura del **vector A** con cadenas alquílicas convenientemente funcionalizadas en el N del pirrol B se llegará a la estructura **-Py[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py-Ind (vector B)**. Modificando el extremo de la cadena alquílica de este vector podrá accederse a ligandos di y multivalentes. (Figura 41)

Finalmente, y como ejemplo de la eficacia de la estrategia sintética desarrollada en esta Tesis Doctoral, se procederá a la síntesis de miméticos de glicopéptidos modificados de los **vectores A** y **B** con los epítomos de Ser o Thr *O*- β -GlcNHAc. Estos epítomos de las glicoproteínas unidos al vector **Tipo A** o **Tipo B** genera miméticos de glicopéptidos que se espera que interaccionen con el ADN. (Figura 41)

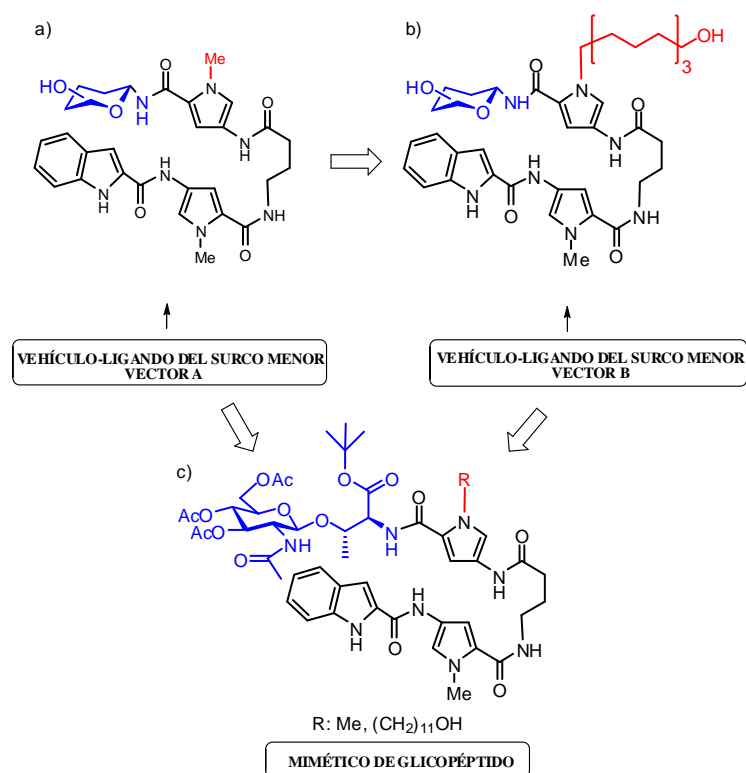


Figura 41. a) Fórmula general de glico-oligoamidas derivadas del **vector A**. b) Fórmula general de las glico-oligoamidas derivadas del **vector B**. c) Miméticos de glicopéptidos derivados del **vector A** (R = Me) y del **vector B** (R = $(CH_2)_{11}OH$).

OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

Objetivos

El objetivo del trabajo que se presenta en esta Tesis Doctoral es la puesta a punto de una metodología sintética general y versátil para la síntesis de **glico-oligoamidas**. (Figura 1)

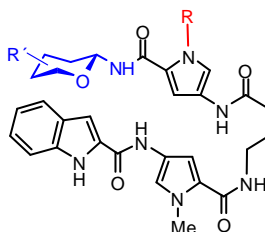


Figura 1. Estructura general de las **glico-oligoamidas**

Mediante esta metodología se pretende obtener glico-oligoamidas derivadas de cualquier carbohidrato. Por lo que se desarrollará una síntesis versátil para así acceder a una gran diversidad de compuestos.

Se prepararán:

➤ Glico-oligoamidas Tipo I

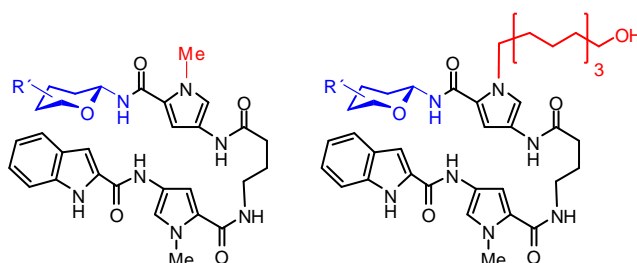


Figura 2. Glico-oligoamidas **Tipo I**

➤ Modelos de la hebra azúcar

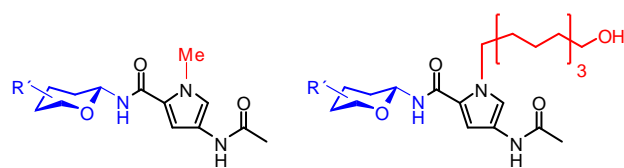


Figura 3. Modelos de la **hebra azúcar** de las **glico-oligoamidas Tipo I**

➤ Un mimético de glico-péptido

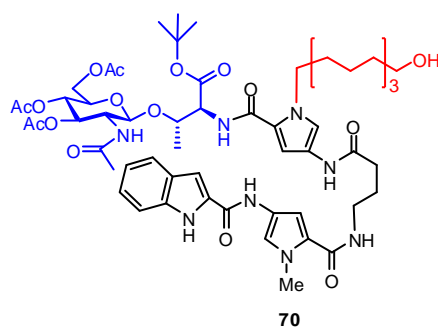


Figura 4. **Mimético de glico-péptidos** derivado de las glico-oligoamidas

➤ Glico-oligoamidas Tipo II

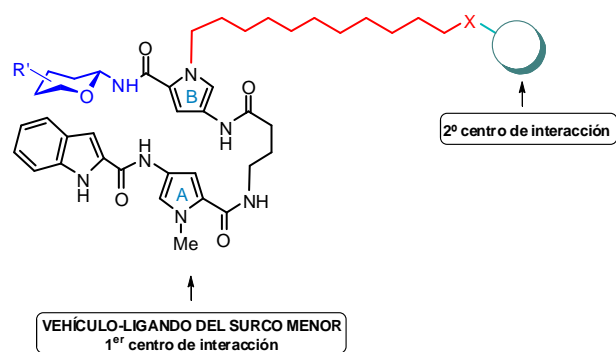
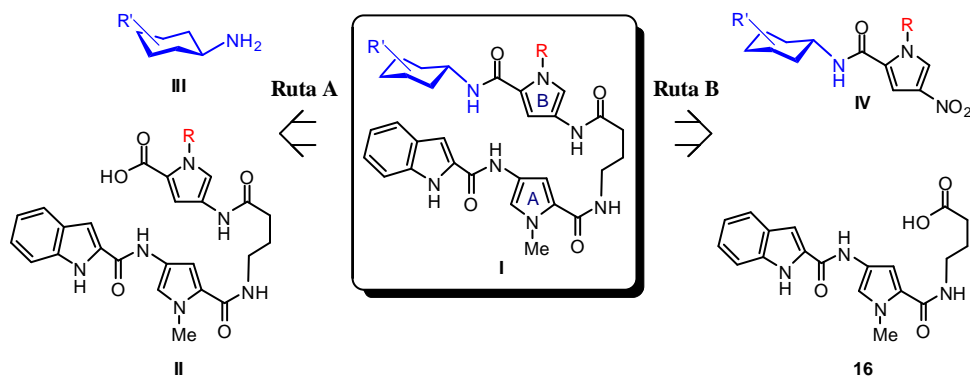


Figura 5. Glico-oligoamidas **Tipo II**

Plan de trabajo

Las **glico-oligoamidas Tipo I** se prepararán por dos rutas (Ruta A y Ruta B).

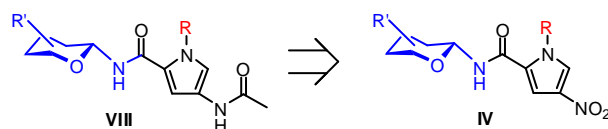


Esquema 1. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas Tipo I** por las **Rutas A y B**. **R**: -Me, $-(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{11}\text{OBn}$, $-(\text{CH}_2)_{11}\text{SBn}$; **III**: cHx-NH_2 (**51**), $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ (**36**), $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-L-Fuc-NH}_2$ (**37**), $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Glc-NH}_2$ (**38**) y $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-NH}_2$ (**39**)

La consecución de la **Ruta A** implica la preparación de los ácidos oligoamídicos **II**, activación de éstos y la reacción entre los ácidos oligoamídicos **II** convenientemente activados con diferentes aminoazúcares adecuadamente protegidos o con la cHx-NH_2 (aminas **III**) para la formación del enlace amidoglicosídico.

La consecución de la **Ruta B** implica la preparación de los glico-nitropirroles **IV**, reducción del grupo nitro a amina de éstos, la preparación de **HO- γ -Py-Ind** (**33**) y formación del enlace amida entre ambos.

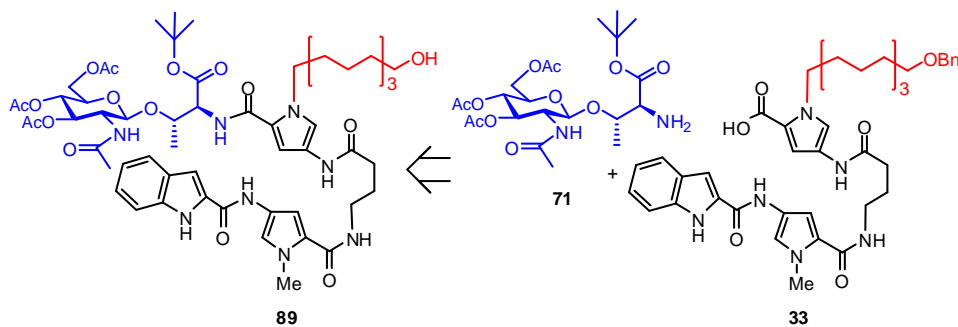
Los modelos de la hebra azúcar **VII** se prepararán a partir de los gliconitropirroles **IV** obtenidos en la **Ruta B**, por reducción del grupo nitro a amina seguida de acetilación. (Esquema 2)



Esquema 2. Esquema retrosintético para la preparación de los **modelos hebra azúcar**

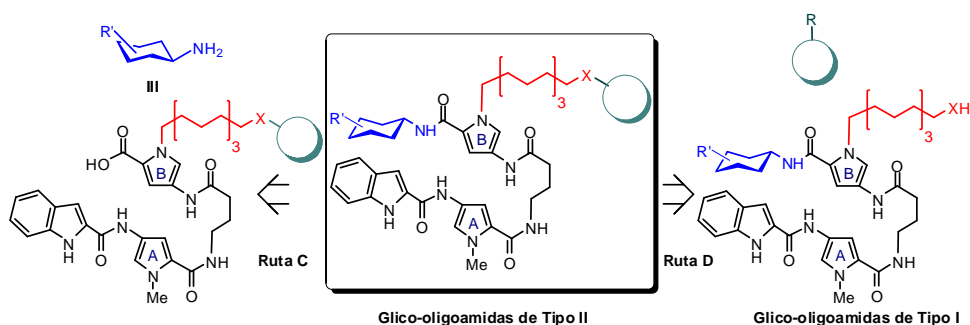
VIII. **R** = -Me, $-(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$

El mimético de glico-péptido **(AcO)₃-NHAc-Glc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (70)** se preparará mediante la reacción entre el ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (34)** y la amina **(AcO)₃-NHAc-Glc-Thr-NH₂ (57)** para la formación del enlace amidoglicosídico entre ambos, seguida de reacción de desbencilación. (Esquema 3)



Esquema 3. Esquemas retrosintético para la síntesis del compuesto **70**.

Las **glico-oligoamidas Tipo II** se prepararán por dos rutas (Ruta C y Ruta D). (Esquema 4)



Esquema 4. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas Tipo II** por las **Rutas C y D**. **X** = O, S; **III**: ciclohexilamina (**51**), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**); **R** = cualquier grupo funcional que reaccione con XH; = representación general para el segundo centro de interacción.

La consecución de la **Ruta C** implica la preparación de los ácidos oligoamídicos **HO-Py(B)[(CH₂)_nX-, previamente sustituidos en el extremo de la cadena alifática, seguida de la formación del enlace amidoglicosídico mediante la reacción de acoplamiento de éstos convenientemente activados con diferentes aminoazúcares adecuadamente protegidos o con la cHx-NH₂ (aminas **III**) para la formación del enlace amidoglicosídico.**

La consecución de la **Ruta D** implica la preparación de las **glico-oligoamidas Tipo I** (**Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nXH]-γ-Py(A)-Ind**) seguida de la sustitución del extremo de la cadena alifática para dar lugar a las correspondientes **glico-oligoamidas Tipo II**.

CAPÍTULO 1

PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I

1. PREPARACIÓN DE LAS GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I

1.1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. Formación del enlace amida

Los **enlaces amida** ($R-CO-NH-R'$) juegan un papel muy importante en la composición de sistemas biológicos. Este es el caso, por ejemplo, de la unión entre el grupo amino ($-NH_2$) de un aminoácido y el ácido carboxílico ($-COOH$) de otro aminoácido, que da lugar a péptidos y proteínas.¹ Los enlaces amida no sólo se encuentran en sistemas biológicos, estando también presentes en un innumerable número de moléculas, entre las que se pueden incluir una gran cantidad de fármacos; por lo que la formación del enlace amida es una de las reacciones más importantes en la Química Orgánica.²

Los **enlaces amida** ($R-CO-NH-R'$) se sintetizan normalmente a partir de los grupos amina ($-NH_2$) y ácidos carboxílicos ($-COOH$). La reacción directa del ácido y la amina no ocurre espontáneamente a temperatura ambiente, ya que se formaría la sal correspondiente. La condensación directa de la sal requeriría condiciones de reacción drásticas (temperaturas mayores de 200 °C), ya que el proceso es termodinámicamente desfavorable. Por esta razón, para favorecer la formación del enlace amida, normalmente es necesaria una activación previa del ácido carboxílico para hacerlo más reactivo frente al ataque nucleófilo de la

¹ Para este caso este enlace se denomina enlace peptídico.

² a) Smith, M. S.; March, J. “*March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*” Wiley-Interscience, 6th Edition, 2007. b) Review general para la formación de enlaces amida con los diferentes agentes de acoplamiento: Valeur, E.; Bradley, M. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 606-631.

amina; este proceso normalmente consiste en convertir el grupo –OH del ácido carboxílico en un buen grupo saliente, antes de hacerlo reaccionar con la amina correspondiente.²

Para solventar los problemas relacionados con la formación del enlace amida se han desarrollado numerosos métodos y agentes de acoplamiento.^{2b, 3}

En este sentido, se han desarrollado diferentes estrategias y reactivos que aumentan la electrofilia del grupo ácido; hay diferentes modos de acoplar estos reactivos con la correspondiente amina según se produzca una preactivación o la activación se lleve a cabo *in situ*.^{2b, 3}

- Preactivación: se forma, en un primer paso, un agente acilante reactivo (ej. un haluro de acilo) a lo que sigue inmediatamente el tratamiento con la amina.^{2b, 3} (Esquema 1.1.1.1.)



Esquema 1.1.1.1. Formación previa de un agente acilante reactivo y acoplamiento con la amina^{2b, 3}

- El reactivo acilante se genera *in situ* a partir del ácido mediante la adición de un agente activante o de acoplamiento.^{2b, 3} (Esquema 1.1.1.2.)

³ Ver reviews sobre la formación de enlaces amida con los diferentes agentes de acoplamiento: a) Montalbetii, C. A. G. N.; Falque, V. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 10827-10852. b) Han, S.-y.; Kim, Y.-A. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2447-2467. c) Humphrey, J. M.; Chamberlin, A. R. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 2243-2266.



Esquema 1.1.1.2. Formación *in situ* de un agente acilante reactivo y acoplamiento con la amina^{2b, 3}

1.1.2. Síntesis de oligoamidas heteroaromáticas

Existen dos metodologías de trabajo generales para llevar a cabo la síntesis de **oligoamidas heteroaromáticas**: la síntesis en **disolución**, método que podríamos calificar como clásico, y la síntesis en **fase sólida**, metodología más reciente y muy útil para el caso de la síntesis de cadenas poliamídicas de gran tamaño. Además, también se ha desarrollado una metodología alternativa a la síntesis de oligoamidas aromáticas en disolución y en fase sólida que consiste en utilizar polietilén glicol monometil éter (MeO-PEG-OH) como soporte polimérico soluble.⁴ Respecto a la formación de los correspondientes enlaces amida, las tres metodologías se basan en los mismos conceptos.

Los residuos heteroaromáticos de los que suelen constar las oligoamidas son compuestos bifuncionales, que poseen un grupo ácido y un grupo amino. Para asegurarnos de que el enlace amida se forma entre los dos grupos deseados, la estrategia que usualmente se emplea conlleva la protección selectiva de la amina y del carboxilato que no deseamos que reaccionen; de este modo en la construcción

⁴ a) König, B.; Papke, U.; Rödel, M.; *Chem. Commun.* **1998**, 605-606. b) König, B.; Papke, U.; Rödel, M. *New J. Chem.* **2000**, 24, 39-45.

de la cadena oligoamídica, se debe ir alternando procesos de protección, formación de enlaces amida y desprotección, para liberar los grupos reactivos que van a participar en la formación del siguiente enlace evitándose así reacciones de autocondensación.

A. Síntesis en disolución

Para la síntesis de **oligoamidas heteroaromáticas** en disolución se han desarrollado dos tácticas sintéticas diferentes para acoplar los ácidos carboxílicos con las correspondientes aminas: la primera, implica el empleo de diferentes equivalentes sintéticos de ácidos heteroaromáticos preactivados y la segunda, que la activación del correspondiente ácido se realice *in situ*.

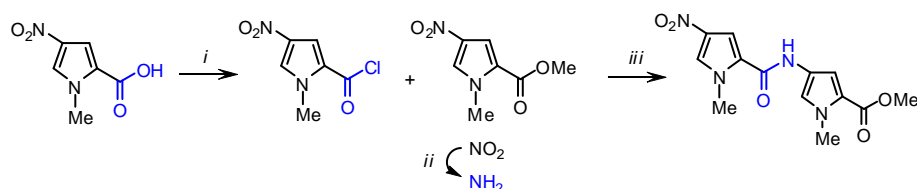
a) Ácidos carboxílicos heteroaromáticos preactivados:

-Cloruro de acilo:⁵

Este método se basa en el empleo de cloruros de acilo en la reacción de acoplamiento con la amina correspondiente. De manera general, la formación del cloruro de acilo se lleva a cabo mediante la reacción del cloruro de tionilo o del cloruro de oxalilo y el correspondiente ácido carboxílico.

Por ejemplo, el uso de cloruro de acilo para la formación de enlaces amida en **oligoamidas heteroaromáticas** se ha empleado en la síntesis de los antibióticos naturales Netropsina y Distamicina, así como en la de sus derivados.^{5b, 5e} (Esquema 1.1.2.1.)

⁵ a) Weiss, M. J.; Webb, J. S.; Smith, J. *Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 1266. b) Bialer, M.; Yagen, B.; Mechoulam, R. *Tetrahedron* **1978**, 34, 2389-2391. c) Krowicki, K.; Lown, J. W. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 3493-3501. d) Church, K. M.; Wurdeman, R.; Zhang, Y.; Chen, F.-X.; Gold, B. *Biochemistry* **1990**, 29, 6827-6838. e) Lown, J. W.; Krowicki, K. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 3774-3779.



Clave: *i.*- Cloruro de tionilo, benceno *ii.*- H₂, Pd/C, metanol; *iii.*- THF

Esquema 1.1.2.1. Ejemplo del uso de cloruro de acilo para la formación del enlace amida

-Tricloroacetilos⁶

Para la síntesis de oligoamidas heteroaromáticas se han descrito y usado muy frecuentemente los tricloroacetilos: *N*-metil-2-tricloroacetilpirrol y el 1-metil-2-tricloroacetilimidazol y sus nitroderivados, 4-Nitro-*N*-metil-2-tricloroacetilpirrol y el 4-Nitro-1-metil-2-tricloroacetilimidazol. (Figura 1.1.2.1.)

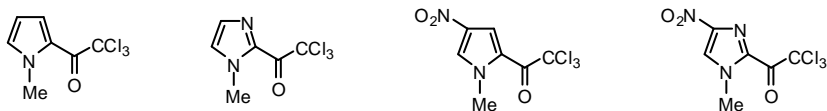
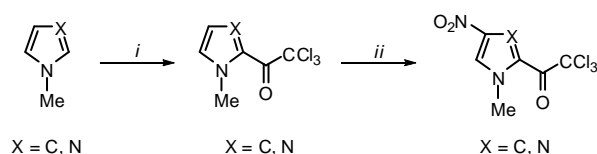


Figura 1.1.2.1. *N*-metil-2-tricloroacetilpirrol, 1-metil-2-tricloroacetilimidazol, 4-Nitro-*N*-metil-2-tricloroacetilpirrol y 4-Nitro-1-metil-2-tricloroacetilimidazol

⁶ a) Nishiwaki, E.; Tanaka, S.; Lee, H.; Shibuya, M. *Heterocycles* **1988**, 27, 1945-1952. b) Nishiwaki, E.; Lee, H.; Matsumoto, T.; Toyooka, K.; Sakurai, H.; Shibuya, M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 1299-1302. c) Xiao, J.; Yuan, G.; Huang, W.; Chanm A. S. C.; Lee, K.-L. D. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5506-5513.

Estos compuestos se preparan fácilmente a partir de los productos comerciales *N*-metil pirrol y *N*-metil imidazol mediante reacciones de tricloroacetilación y nitración.^{7, 8} (Esquema 1.1.2.2.) Es importante señalar que estos cuatro heterociclos son estables a temperatura ambiente y solubles en acetato de etilo.⁹ Por estas propiedades, el empleo de derivados tricloro acetilados suele facilitar los procesos de purificación y aislamiento de las correspondientes oligoamidas.



Clave: *i.*- Cloruro de tricloro acetilo, Et₂O; *ii.*- HNO₃, Ac₂O, iPrOH, -40°C

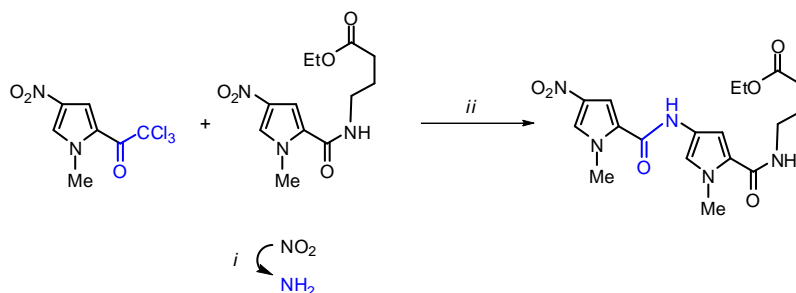
Esquema 1.1.2.2. Formación de *N*-metil-2-tricloroacetilpirrol, 1-metil-2-tricloroacetilimidazol, 4-Nitro-*N*-metil-2-tricloroacetilpirrol y 4-Nitro-1-metil-2-tricloroacetilimidazol

⁷ La acilación se produce regioselectivamente a la posición C-2 debido a que el carbocatión intermedio es más estable que el que se formaría en la posición 3 (tres estructuras catiónicas frente a dos). Para que la nitración sea selectiva en la posición 4 es importante la presencia del grupo tricloroacetilo; el efecto electrón atrayente del grupo tricloroacetilo hace que las posiciones 3 y 5 tengan densidad de carga positiva, por lo que la nitración se produce regioselectivamente en posición 4: Bélanger, P. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 27, 2502-2508.

⁸ Xiao y colaboradores han demostrado que la presencia de un grupo nitro en la posición 4 de 1-metil-1H-pirrol aumenta la electrofilia del grupo tricloroacetilo (ref. 6c).

⁹ Las oligoamidas que contienen dos o más heterociclos aromáticos conectados por al menos un enlace amida suelen ser solubles en disolventes orgánicos polares como la DMF o DMSO e insolubles en disolventes como el acetato de etilo (AcOEt), tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo.

En el esquema 1.1.2.3. se puede ver un ejemplo de formación del enlace amida empleando el grupo tricloroacetilo.^{6c}



Clave: *i.*- H₂, Pd/C (10%) en metanol; *ii.*- AcOEt

Esquema 1.1.2.3. Formación del enlace amida empleando el grupo tricloroacetilo^{6c}

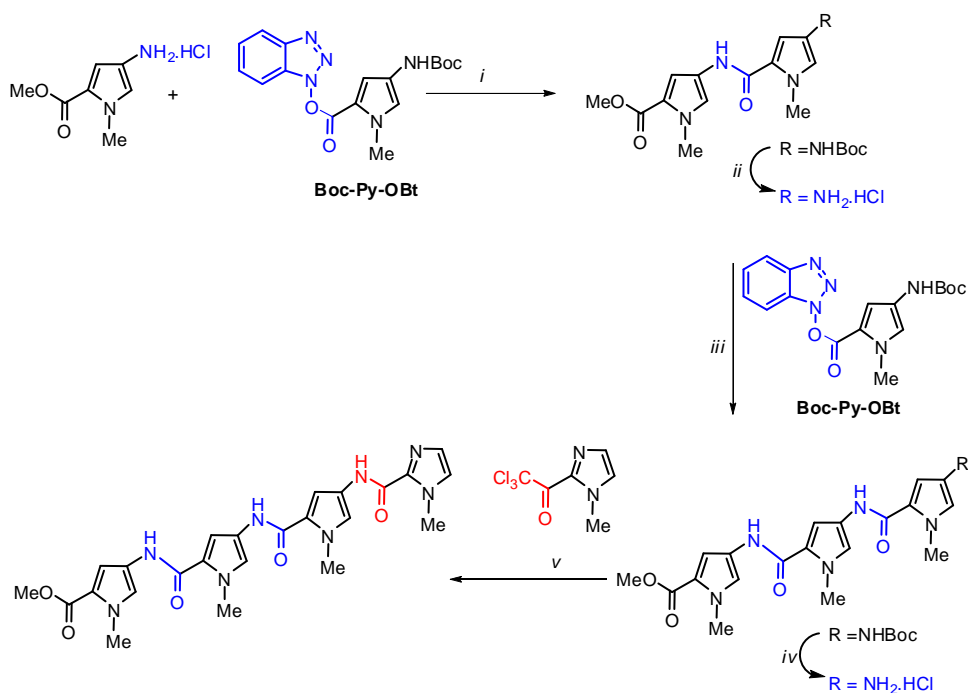
- Ésteres de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) e 1-hidroxí-7-aza-benzotriazol (HOAt):

En general, los ésteres de HOBt y HOAt están entre los derivados de ácido más empleados para la formación de enlaces amida.^{2b}

Recientemente el Dr. P. B. Dervan ha desarrollado una síntesis en disolución a partir del éster activado **Boc-Py-OBt**. Con este método ha conseguido sintetizar **oligoamidas heteroaromáticas** de hasta 8 residuos heteroaromáticos a escala multigramo (2 g). Esta táctica tiene la particularidad de que se generan las aminas en forma de hidrocloreuro; así mejora los procesos de

aislamiento y purificación de los productos intermedios y finales por precipitación de la sal en forma de hidrocloreuro.¹⁰

Una combinación del empleo del éster activado, **Boc-Py-OBt**, y del empleo del 4-Nitro-1-metil-2-tricloroacetilimidazol ha permitido la preparación de **MeO-Py-Py-Py-Im**.¹⁰ (Esquema 1.1.2.4.)



Clave: *i.*- DIEA, DMF, 93%; *ii.*- 2.0 M HCl, Et₂O, 99% *iii.*- DIEA, DMF, 96% *iv.*- 4.0 M HCl, dioxano; *v.*- DIEA, DMF, 83%

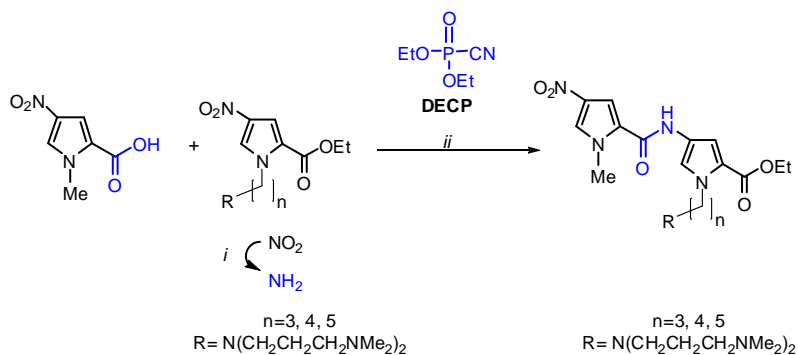
Esquema 1.1.2.4. Preparación de **MeO-Py-Py-Py-Im**¹⁰ por combinación del empleo del éster activado, **Boc-Py-OBt** (azul) y del empleo del 4-Nitro-1-metil-2-tricloroacetilimidazol (rojo).

¹⁰ Chenoweth, D. M.; Harki, D. A.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem.Soc.* **2009**, *131*, 7175-7181.

b) Ácidos carboxílicos heteroaromáticos activados “*in situ*”:

- Dietil cianofosfonato (DECP)¹¹

Este procedimiento permite la preparación de oligoamidas heteroaromáticas que contienen alquil aminas secundarias y terciarias sin necesidad de su protección previa.¹¹ (Esquema 1.1.2.5.)



Clave: *i.*- H₂, Pd/C (10%) en metanol; *ii.*- Et₃N, DMF

Esquema 1.1.2.5. Ejemplo del uso de DECP para la formación del enlace amida en presencia de alquil aminas secundarias y terciarias no protegidas¹¹

¹¹ He, G.-X.; Browne, K. A.; Groppe, J. C.; Blasko, A.; Mei, H.-Y.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7061-7071.

- Derivados de carbodiimida ^{6c, 12}

La preparación de oligoamidas heteroarómicas con un número mayor de dos heterociclos aromáticos suele requerir el empleo de carbodiimidas tales como díciclohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIPC), etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) ^{6c, 12} en combinación con los activantes previamente nombrados HOBt (o HOAt) ¹³. (Figura 1.1.2.2.)

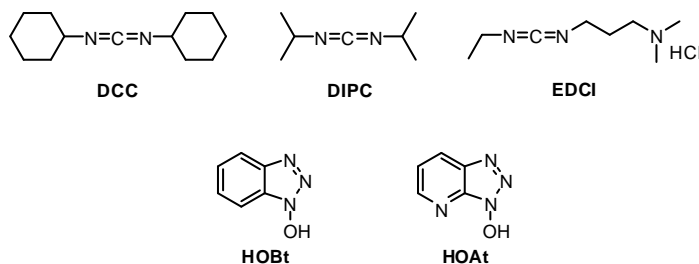


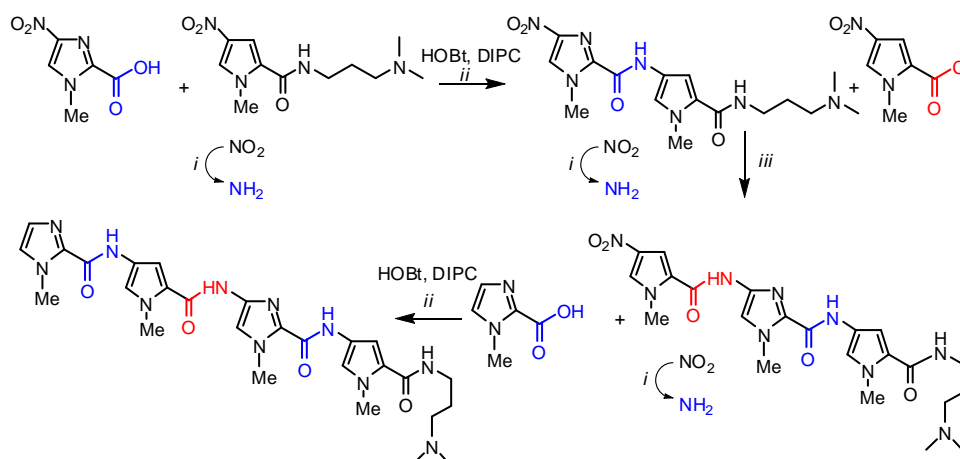
Figura 1.1.2.2. Estructura de las carbodiimidas DCC, DIPC y EDCI y de los reactivos HOBt y HOAt

Una combinación del empleo de esta táctica y el empleo de cloruros de ácido ha permitido la obtención de **Im-Py-Im-Py-Dp** ¹⁴. (Esquema 1.1.2.6.)

¹² Para ver ejemplos del uso de carbodiimidas para la síntesis de oligoamidas heteroarómicas ver: a) Mrksich, M.; Parks, M. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7983-7988. b) Tao, Z.-F.; Fujiwara, T.; Saito, I.; Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4961-4967. c) Grehn, L.; Ragnarsson, U. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3492-3497. Para propuestas mecanísticas ver ref 2. y 3a

¹³ Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.

¹⁴ Mrksich, M.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3325-3332.



Clave: *i.*- 300 psi H₂, 10% Pd/C *ii.*- DMF *iii.*- DMF

Esquema 1.1.2.6. Preparación de **Im-Py-Im-Py-Dp**¹⁴ por combinación del empleo del agente acoplante (DCC) y el aditivo (HOBt) (azul) y del empleo del cloruros de ácido (rojo).

La activación de los ácidos carboxílicos con DCC/HOBt también se ha usado para la preparación de **oligoamidas** con un elevado número de residuos heteroaromáticos. Un ejemplo de este caso es la síntesis de **Py-Py-Py-Py-γ-Py-Im-Im-Py-β-Dp**^{6c}. (Figura 1.1.2.3.) Es importante resaltar que en el correspondiente trabajo los autores describen los problemas derivados del aumento del número de residuos heteroaromáticos, en concreto, asocian la disminución de la solubilidad de éstos a la disminución del rendimiento químico en las sucesivas reacciones.

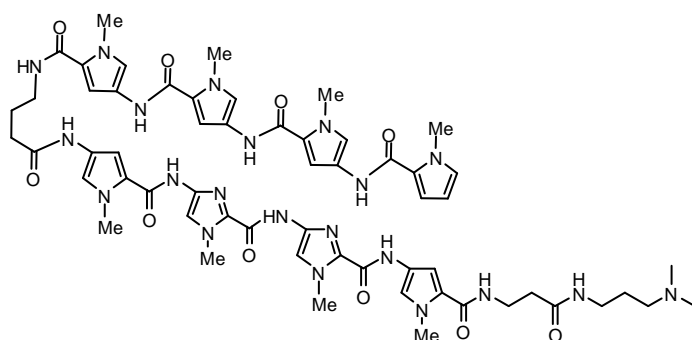
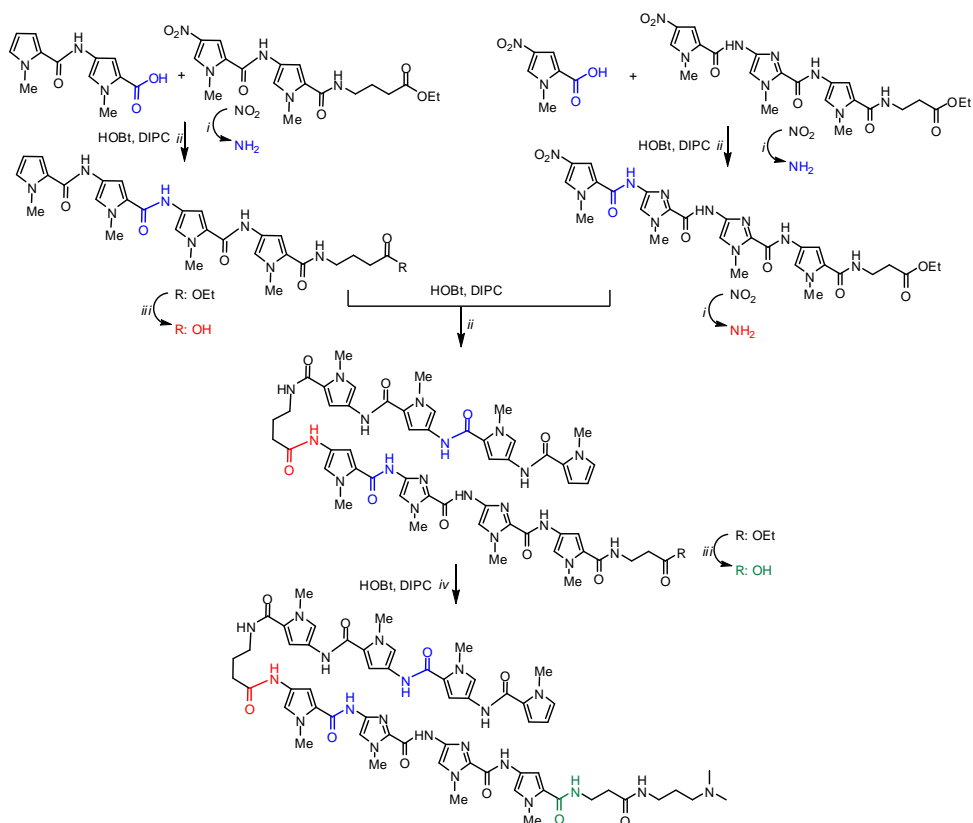


Figura 1.1.2.3. Estructura de **Py-Py-Py-Py- γ -Py-Im-Im-Py- β -Dp**, ejemplo de oligoamida heteroaromática, preparada empleando en diferentes etapas de su síntesis DCC/HOBt.^{6c}

La estrategia diseñada consiste en la preparación de las dos cadenas de 4 aminoácidos heteroaromáticos por separado, seguido del acoplamiento de ambas. Finalmente se introduce el fragmento de *N,N*-dimetil-propildiamino (Dp) para obtener el compuesto final. (Esquema 1.1.2.7.)



Clave: *i*.- H₂, Pd/C *ii*.- DMF *iii*.- NaOH, EtOH/H₂O 95% *iv*.- *N,N*-dimetil-propildiamina (Dp), DMF

Esquema 1.1.2.7. Preparación de **Py-Py-Py-Py-γ-Py-Im-Im-Py-β-Dp**^{6c}

B. Síntesis en fase sólida

La síntesis de **oligoamidas heteroaromáticas en fase sólida** ha sido desarrollada principalmente por el Dr. Baird y el Dr. Dervan para oligoamidas de elevado número de residuos heteroaromáticos con objeto de solventar los problemas asociados con el bajo rendimiento en el que se suelen obtener en disolución.¹⁵

Las ventajas que presenta la síntesis en fase sólida de oligoamidas heteroaromáticas de elevado número de residuos respecto a la correspondiente síntesis en disolución son principalmente tres: a) Disminución del tiempo de preparación de meses a días. b) Mayor sencillez de los procesos de aislamiento y purificación de los productos intermedios y finales. c) Capacidad de automatización.

Cabe destacar que esta metodología presenta también las siguientes desventajas: a) La cantidad de oligoamida final que se puede preparar es, en general, pequeña. b) La necesidad de emplear un elevado exceso de reactivos que adicionalmente suelen ser caros.

Para la síntesis en fase sólida de oligoamidas, el Dr. Dervan y col. han usado dos procedimientos generales:

- Procedimiento 1:^{15a, 15b}

Basado en el empleo de:

¹⁵ a) Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem.Soc.* **1996**, *118*, 6141-6146. b) Parks, M. E.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem.Soc.* **1996**, *118*, 6147-6159. c) Wurtz, N. R. ; Turner, J. M.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1201-1203. d) Su, W.; Gray, S. J.; Dondi, R.; Burley, G. A. *Organic Letters*, **2009**, *11*, 3910-3913.

- a) Resina de PAM (Boc - β - alanina - (4 - carbonilaminometil) - benzil - ester - copoli (estireno -divinilbenceno))¹⁶
 - b) Grupo protector empleado para los grupos amino: el grupo carbamato de terc-butoxicarbonilo (Boc) (Figura 1.1.2.4.a.)
 - c) Monómeros preparados: Boc-Py-OBt y Boc-Im-OH. (Figura 1.1.2.4.b.)
 - d) Las posteriores desprotecciones del grupo Boc se realizan en condiciones ácidas (TFA/DCM) y el desanclaje de la resina se produce en condiciones básicas ((*N*, *N*-dimetilamino)propilamina).
- Procedimiento 2: ^{15c}
Basado en:
 - a) Resina de Fmoc- β -alanina-Wang.
 - b) Grupo protector empleado para los grupos amino: el grupo carbamato de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc) (Figura 1.1.2.4.a.)
 - c) Monómeros preparados: Fmoc-Py-OH y Fmoc-Im-OH. (Figura 1.1.2.4.b.)
 - d) En este procedimiento la desprotección del grupo Boc se realiza en condiciones básicas (piperidina/*N*-metil-2-pirrolidona (NMP)) y el desanclaje de la resina se produce también en condiciones básicas ((*N*, *N*-dimetilamino)propilamina).

¹⁶ Con los heterociclos Boc-Py-OBt y Boc-Im-OH también se ha empleado la resina de oxima: Belitsky, J. M.; Nguyen, D. H.; Wurtz, N. R.; Dervan, P. B. *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, *10*, 2767-2774.

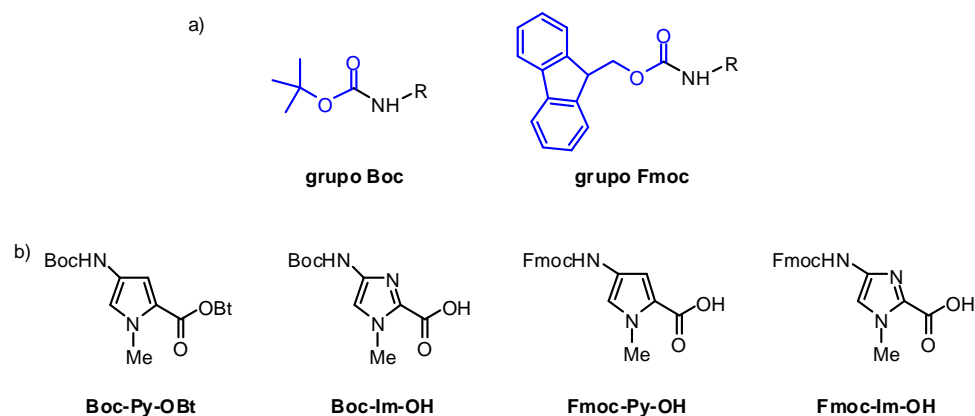
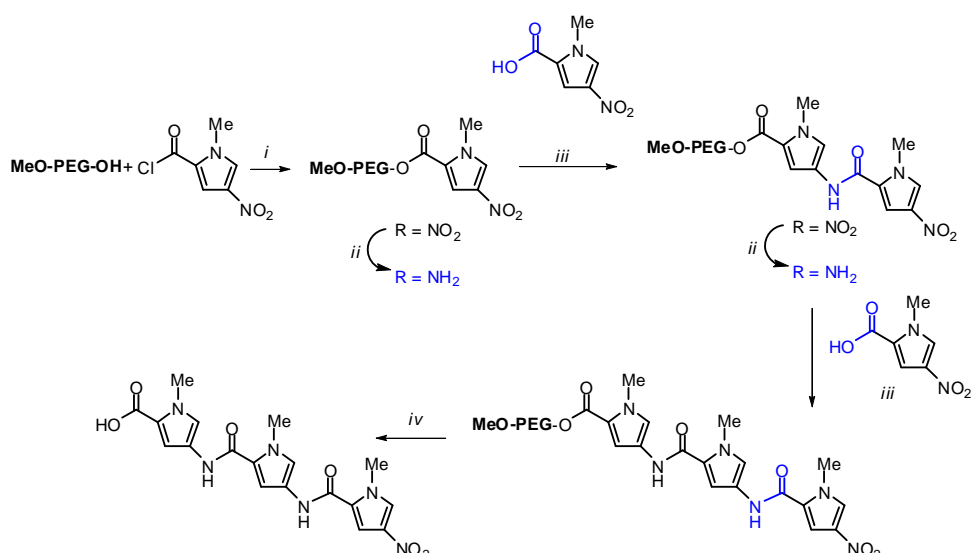


Figura 1.1.2.4. a) Estructura de los grupos protectores Boc y Fmoc utilizados para aminas (en azul). **b)** Monómeros más comúnmente empleados en las síntesis de oligoamidas heteroaromáticas en fase sólida.

C. Síntesis con polietilen glicol monometil éter (MeO-PEG-OH)

El Dr. König ha desarrollado una alternativa a la síntesis de oligoamidas heteroaromáticas en disolución y en fase sólida. Ésta consiste en utilizar polietilen glicol monometil éter (MeO-PEG-OH) como soporte polimérico soluble.⁴ El procedimiento se basa en anclar un primer residuo heteraromático al polímero soluble a través de un enlace éster e ir introduciendo residuos heteroaromáticos en la cadena oligoamídica mediante etapas consecutivas de reducción y acoplamiento. Por último, se realiza la hidrólisis del polímero con NaOH. (Esquema 1.1.2.8.)



Clave: *i.*- CH₂Cl₂, Py; *ii.*- NH₄HCO₂, Pd/C, MeOH; *iii.*-DCC, HOBT, DMF; *iv.*- NaOH (2 M), H₂O 50°C

Esquema 1.1.2.8. Uso de polietilenglicol monometil éter (MeO-PEG-OH) para la síntesis de oligoamidas heteroaromáticas.^{4a}

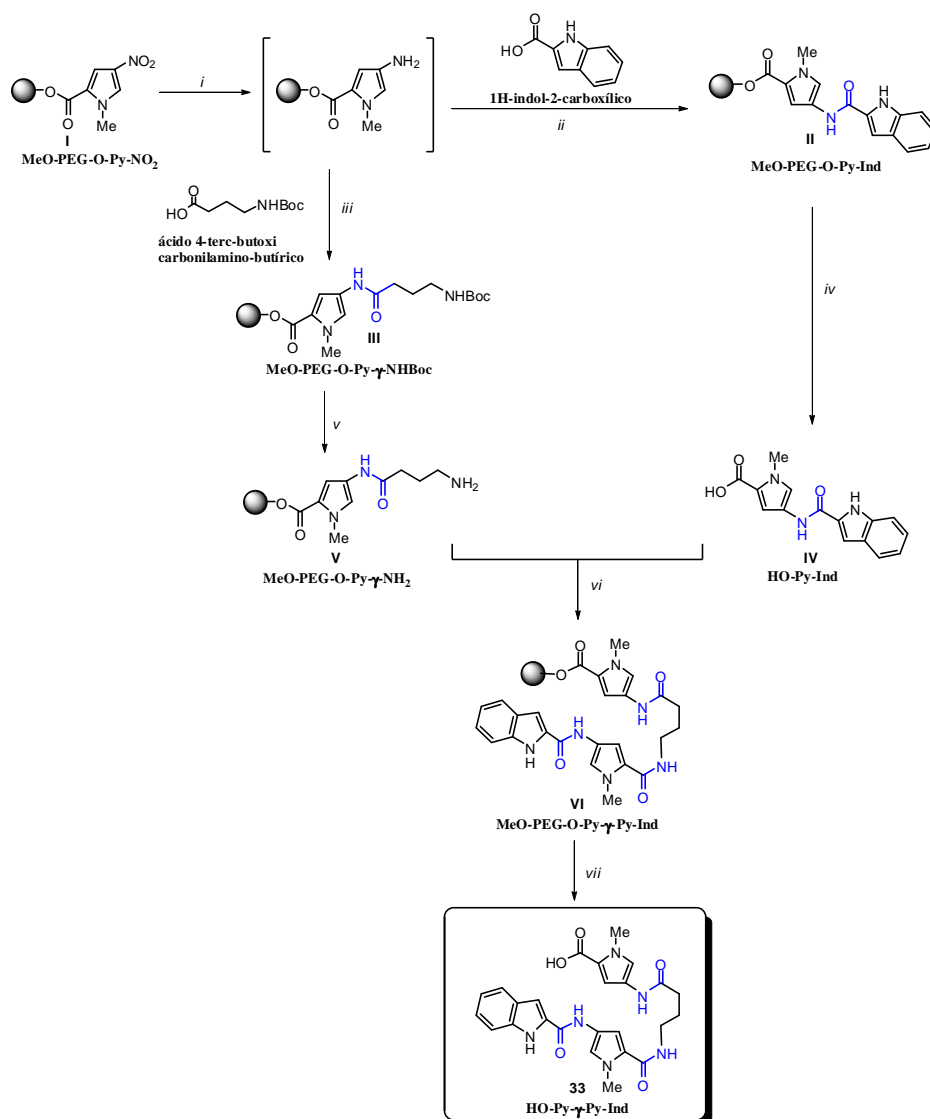
La síntesis sobre MeO-PEG-OH presenta problemas a la hora de preparar moléculas de gran número de residuos aromáticos y no permite una fácil automatización del proceso. Sin embargo, presenta otras ventajas frente a la síntesis convencional en disolución y en fase sólida que hacen de ella una metodología atractiva para la obtención de oligoamidas de pequeño tamaño. Una de las ventajas es que el MeO-PEG-OH se disuelve fácilmente en diclorometano y metanol, y permite solubilizar, a su vez, a las moléculas que lleva ancladas. Además, las reacciones de acoplamiento y reducción se pueden realizar en estos disolventes orgánicos. Por otro lado, la purificación se lleva a cabo fácilmente por precipitación del polímero modificado por éter etílico. El MeO-PEG-OH es un

polímero barato, que permite, adicionalmente, llevar a cabo la síntesis de péptidos sin necesidad de utilizar grupos protectores. Por último, el rendimiento de cada una de las etapas de reacción se puede determinar fácilmente mediante el análisis de espectros de ^1H -RMN, sin necesidad de desanclar las diferentes oligoamidas heteroarómicas del polímero.

Dadas las ventajas que el empleo de MeO-PEG-OH puede ofrecer a la síntesis de oligoamidas de pequeño tamaño, en nuestro grupo de investigación se implementó esta metodología para la obtención del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**.

D. Preparación de glico-oligoamidas empleando polietilen glicol monometil éter (MeO-PEG-OH)

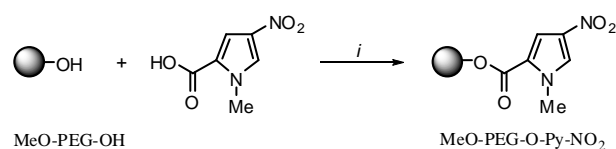
En el grupo de investigación de la Dra. Cristina Vicent se ha sintetizado el ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** empleando polietilen glicol monometil éter (MeO-PEG-OH) como soporte polimérico soluble. (Esquema 1.1.2.9.)



Clave: *i*.- H₂, Pd/C, MeOH; *ii*.- HOBt, DIPC, DMAP, CH₂Cl₂, 68%; *iii*.- HOBt, DIPC, DMAP, CH₂Cl₂, 72%; *iv*.- 1) NaOH_{aq} 1M, 2) HCl (10%), 97%; *v*.- TFA, CH₂Cl₂, 43%; *vi*.- HOBt, DIPC, DMAP, CH₂Cl₂, 70%; *vii*.- 1)NaOH_{aq} 1M, 2) HCl (10%), 5%.

Esquema 1.1.2.9. Esquema de síntesis del ácido **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)** soportada sobre el polímero de MeO-PEG-OH¹⁷

El ácido 1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxílico se ancló a MeO-PEG-OH de peso molecular promedio 5000 g mol⁻¹ mediante un enlace tipo éster. El intermedio **MeO-PEG-O-Py-NO₂** se obtuvo con un rendimiento de 83% como un sólido.¹⁷ (Esquema 1.1.2.10.) Siendo éste el punto de partida para la síntesis. (Esquema 1.1.2.9.)



Clave: *i*.- DIPC, DMAP, CH₂Cl₂, 83%.

Esquema 1.1.2.10. Preparación de **MeO-PEG-O-Py-NO₂**¹⁷ por el grupo de investigación de la Dra. Cristina Vicent

La siguiente etapa de la síntesis consistió en la reducción del grupo nitro del derivado de *N*-metil-pirrol **I**. La amina correspondiente resultó ser inestable, de modo que se utilizó *in situ* inmediatamente tras eliminar el disolvente a vacío. Esta amina se usó en las reacciones de acoplamiento con el ácido 1*H*-indol-2-carboxílico y con el ácido 4-*tert*-butoxicarbonilamino-butírico empleando HOBt/DIPC; en ambas reacciones se obtuvieron los correspondientes intermedios **MeO-PEG-O-Py-Ind (II)** y **MeO-PEG-O-Py-γ-NHBoc (III)**, respectivamente, con rendimientos del 68 y del 43%, respectivamente. Estos derivados son cada una de las mitades correspondientes a la oligoamida final ancladas al MeO-PEG-

¹⁷ Eva Muñoz, Tesis Doctoral, Título: “Una aproximación al estudio carbohidrato-ADN” Directora: Dra. Cristina Vicent, Facultad de Ciencias de la Universidad de Valladolid, Madrid 2003.

OH. A continuación, se desancló **-Py-Ind** del polímero por hidrólisis de **II** en medio básico (NaOH_{aq} 1M), para obtener el derivado ácido **HO-Py-Ind** (**IV**) con un rendimiento del 97%. La eliminación del grupo protector Boc de **MeO-PEG-O-Py- γ -NHBoc** (**III**), por tratamiento con TFA y su posterior acoplamiento con **HO-Py-Ind** (**IV**) condujo al intermedio **MeO-PEG-O-Py- γ -Py-Ind** (**VI**), constituido por el fragmento de oligoamida completa (**-Py- γ -Py-Ind**) anclado al MeO-PEG-OH con un rendimiento del 70%. Finalmente, se obtuvo el ácido oligoamídico **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind** (**33**) por hidrólisis de **MeO-PEG-O-Py- γ -Py-Ind** (**VI**) en medio básico (NaOH_{aq} 1M) sin necesidad de purificación posterior con un rendimiento del 5%. (Esquema 1.1.2.9.)

El mayor inconveniente de esta síntesis fue la pérdida de masa a lo largo de los sucesivos pasos de reacción. Esta pérdida se atribuye a problemas en la etapa de precipitación de las oligoamidas intermedias derivadas de MeO-PEG-OH.

Debido a los problemas encontrados en la síntesis empleando MeO-PEG-OH, se decidió desarrollar una estrategia de síntesis en disolución para la preparación de glico-oligoamidas.

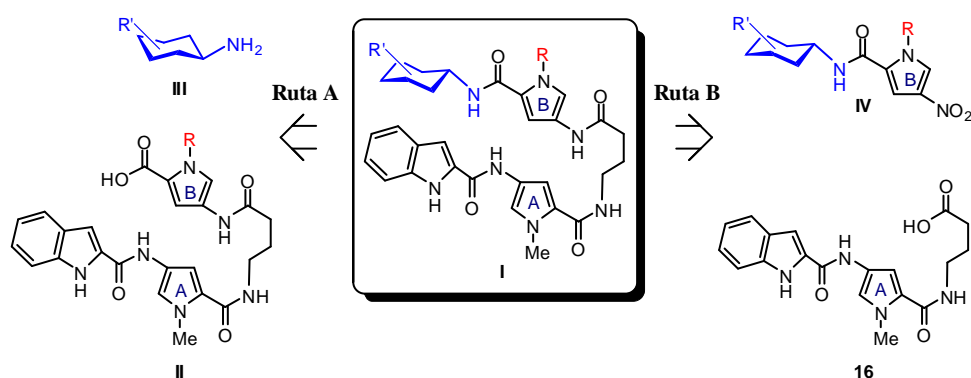
En el presente capítulo de Tesis se describe la síntesis de **glico-oligoamidas Tipo I** en disolución por dos rutas sintéticas alternativas:

a) **Preparación de glico-oligoamidas Tipo I por la Ruta A (Azúcar-NH₂ (**III**) + HO-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind (**II**)), Ruta lineal.**

Implica, primero, la preparación de los ácidos oligoamídicos **II** (**HO-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**); segundo, la formación del enlace amidoglicosídico mediante la reacción de acoplamiento de éstos convenientemente activados con los diferentes aminoazúcares adecuadamente protegidos o con la $\text{CH}_x\text{-NH}_2$ (aminas **III**) (Esquema 1.1.2.11)

b) **Preparación de glico-oligoamidas Tipo I por la Ruta B (Azúcar-Py(B)[R]-NO₂ (IV) + HO-γ-Py(A)-Ind (16)) Ruta convergente.**

Ésta implica, primero, la preparación de los glico-nitropirroles **IV** (Azúcar-Py(B)[R]-NO₂) y del ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)**, segundo, la formación del correspondiente enlace amida.¹⁸ (Esquema 1.1.2.11)



Esquema 1.1.2.11. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas (I)** por las **Rutas A y B**. **R** = -Me, -(CH₂)₁₁OH, -(CH₂)₁₁OBn, -(CH₂)₁₁SBn; **aminas de fórmula general III**: cHx-NH₂ (**51**), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (**38**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**).

Siguiendo estas dos rutas sintéticas se han preparado una serie de **glico-oligoamidas de Tipo I**.¹⁹ Éstas se pueden clasificar a su vez, dependiendo del sustituyente en el nitrógeno 1 del pirrol B. Este sustituyente puede ser un grupo

¹⁸ Martín, J. N.; Muñoz, E. M.; Schwergold, C.; Souard, F.; Asensio, J. L.; Jiménez-Barbero, J.; Cañada, J.; Vicent, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9518-9533.

¹⁹ Ver el apartado *Nomenclatura* para la definición de glico-oligoamida Tipo I.

metilo: compuestos (**1.a-c, e, g, i**) (Figura 1.1.2.5.); una cadena alquílica con un grupo hidroxilo terminal: compuestos (**2.a, c, e**), (Figura 1.1.2.6.) o una cadena alquílica con un grupo bencilo terminal: (**3.a, c**) y (**4.b-c**). (Figura 1.1.2.7.)

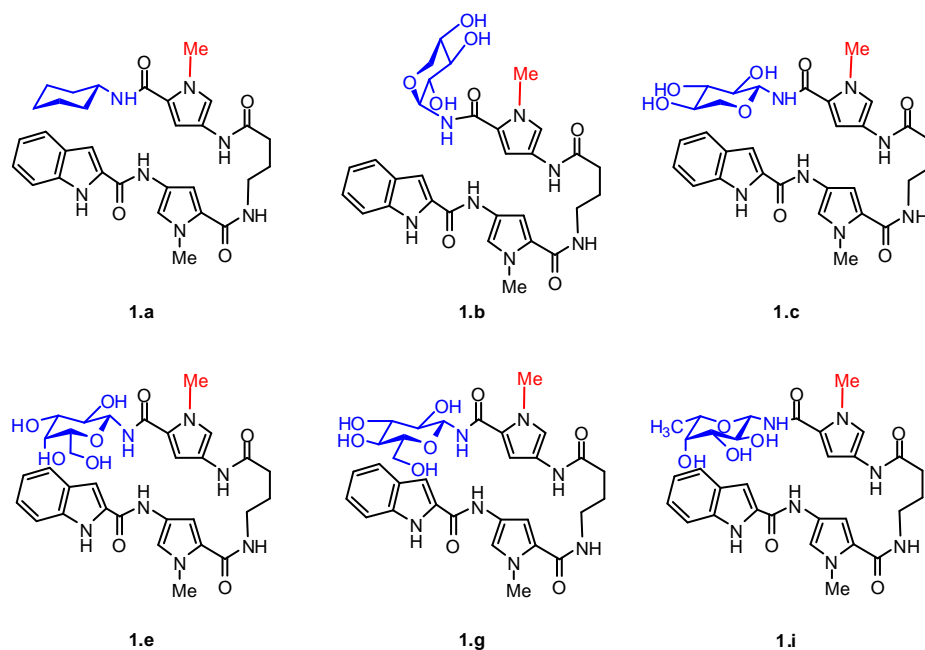


Figura 1.1.2.5. Glico-oligoamidas Tipo I con un grupo metilo en el N-1 del pirrol B y distintos carbohidratos en el extremo C terminal (o cHx).

Compuestos preparados: **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)**²⁰, **α -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.b)**, **β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)**, **β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.e)**, **β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.g)** y **β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.i)**

²⁰ El **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)** se prepara como modelo ciclohexánico de las glico-oligoamidas **Tipo I** que contiene un grupo metilo en el N-1 del pirrol B.

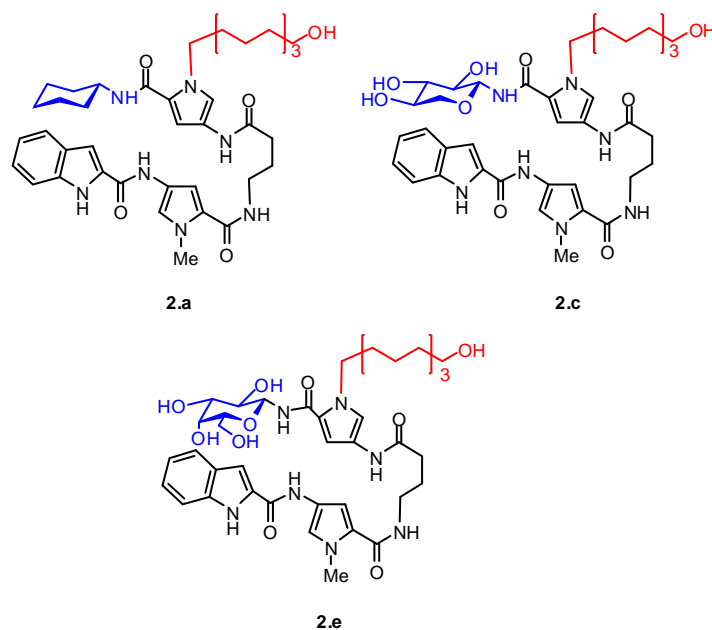


Figura 1.1.2.6. Glico-oligoamidas Tipo I con una cadena alquílica y un grupo hidroxilo terminal en el N-1 del pirrol B.

Compuestos preparados: **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)²¹**, **β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.c)**, **β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.e)**

²¹ **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)** se prepara como modelo ciclohexánico de las glico-oligoamidas **Tipo I** que contiene una cadena alquílica y un grupo hidroxilo terminal en el N-1 del pirrol B.

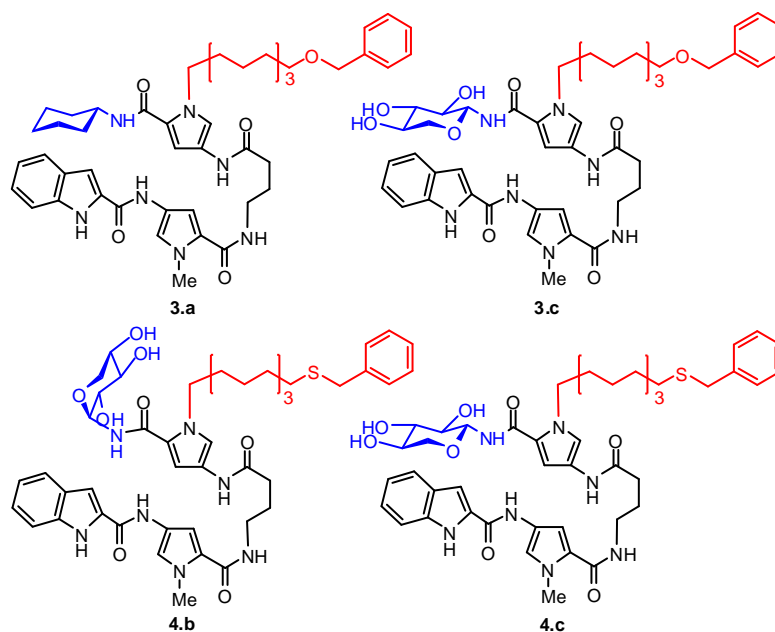


Figura 1.1.2.8. Glico-oligoamidas Tipo I con una cadena alquílica con un grupo bencilo terminal en el N-1 del pirrol B.

Compuestos preparados: **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.a)²²**, **β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.c)**, **α-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (4.b)** y **β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (4.c)**

A continuación se procederá a detallar las dos rutas (Ruta A y Ruta B) para la síntesis en disolución de **glico-oligoamidas Tipo I**.

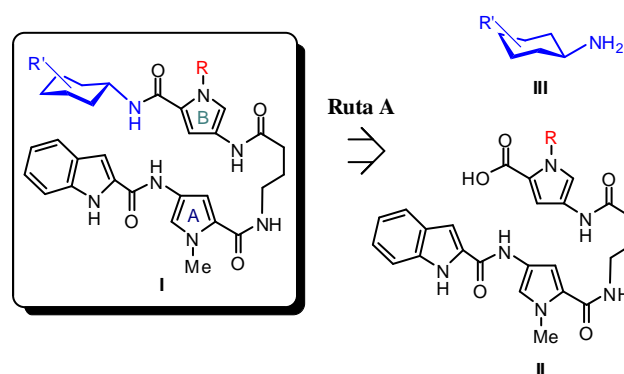
²² **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.a)** se prepara como modelo ciclohexánico de glico-oligoamida **Tipo I** que contiene una cadena alquílica con un grupo bencilo terminal en el N-1 del pirrol B.

1.2. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I POR LA RUTA

A. (Azúcar-NH₂ (III) + HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind (II)) (RUTA LINEAL)

(Esquema 1.1.2.11.)

Según el esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas tipo I** por la **Ruta A** se requiere preparar los ácidos oligoamídicos **II** (HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind) así como los equivalentes sintéticos convenientemente protegidos de las aminas **III**. (Esquema 1.2.1.)



Esquema 1.2.1. Esquemas retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas tipo I** por la **Ruta A**. **R** = -Me, -(CH₂)₁₁OH, -(CH₂)₁₁OBn, -(CH₂)₁₁SBn; **aminas de fórmula general**

III: cHx-NH₂ (**51**), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (**38**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**).

Por su parte, los ácidos oligoamídicos **II (HO-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind)** se prepararán siguiendo la secuencia: reducción del grupo nitro de los nitropirroles **V**, equivalentes sintéticos del pirrol A, a amina^{23, 24, 25} activación del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** y reacción de acoplamiento^{2b, 6c, 12}. (Esquema 1.2.2.)

El ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** se preparará a partir del éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)** y del ácido 1*H*-indol-2-carboxílico (**14**)²⁶ mediante una secuencia análoga a la anteriormente descrita. (Esquema 1.2.2.)

Por último, el éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)** se preparará a partir del hidrocloreto de 4-aminobutirato de etilo (**EtO- γ -NH₂·HCl (12)**)²⁷ y de 2,2,2-tricloro-1-(1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-il)etanona (**Cl₃C-Py(A)-NO₂ (11)**)^{15a}, equivalente sintético del pirrol A. (Esquema 1.2.2.)

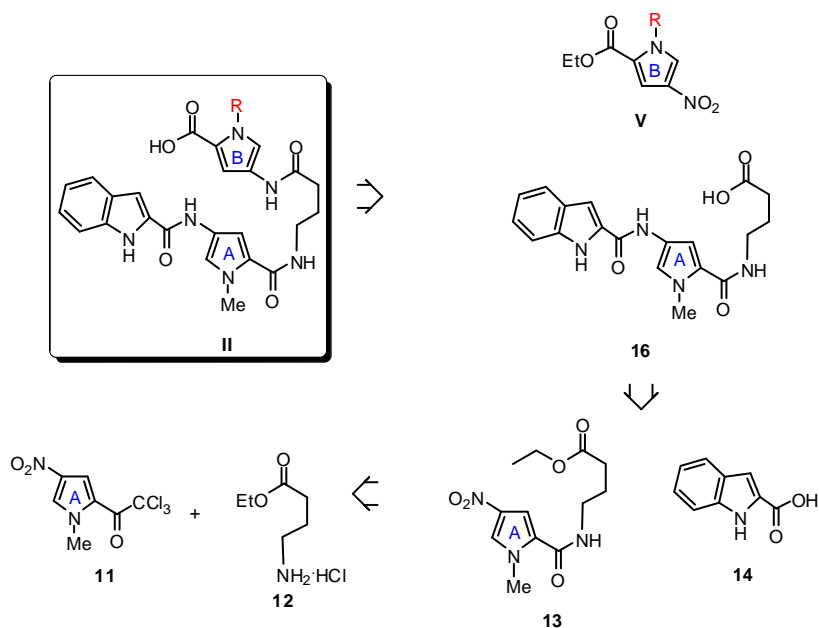
²³ Para diferentes métodos de reducción de nitro a amina en compuestos aromáticos empleando **NH₂-NH₂·H₂O**: a) Jia, G.; Iida, H.; Lown, J. W. *Chem. Commun.*, **1999**, 119-120; b) Jia, G.; Iida, H.; Lown, J. W. *Synlett*, **2000**, 5, 603-606; c) Pasto, D. J.; Taylor, R. T. *Org. React.* **1991**, 40, 100-101; d) Clive, D. L. J.; Angoh, A. G.; Bennet, S. M. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1339-1342.

²⁴ Para diferentes métodos de reducción de nitro a amina en compuestos aromáticos: empleando **NiCl₂·6H₂O/NaBH₄**: a) Nose, A.; Kudo, T. *Chem. Pharm. Bull.*; **1988**, 36, 1529-1533; b) Nishiwaki, E.; Nakagawa, H.; Takasaki, M.; Matsumoto, T.; Sakurai, H.; Shibuya, M. *Heterocycles*, **1990**, 31, 1763-1767.

²⁵ Para diferentes métodos de reducción de nitro a amina en compuestos aromáticos: empleando **NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH**: Bando, T.; Narita, A.; Saito, I.; Sugiyama, H. *Chem. Eur. J.*; **2002**, 8, 4781-4790.

²⁶ Número CAS:1477-50-5; Catálogo Sigma-Aldrich; 2009, Ref: I5109-50G, 187.00 €.

²⁷ Número CAS: 6937-16-2; Catálogo Sigma-Aldrich; 2009, Ref: 390666-25G, 64.60 €.



Esquema 1.2.2. Esquema retrosintético para la formación de los ácidos oligoamídicos **II**.

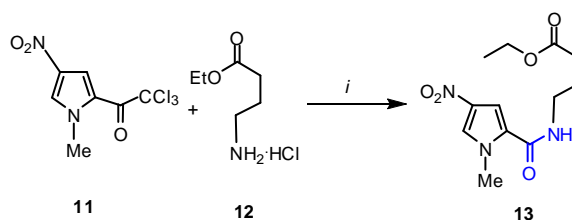
R = -Me, -(CH₂)₁₁OBn, -(CH₂)₁₁SBn

A continuación, se procederá a detallar la síntesis de los intermedios para la obtención de los ácidos oligoamídicos **II** (**HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind**).

1.2.1. Preparación de EtO-γ-Py(A)-NO₂ (**13**)^{6c} (Esquema 1.2.2.)

La reacción de 2,2,2-tricloro-1-(1-metil-4-nitro-1H-pirrol-2-il)etanona (**11**)^{15a}, hidrocloreuro de 4-aminobutirato de etilo (**12**) y Et₃N en AcOEt condujo al

éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)** con un rendimiento del 99% como un sólido blanco.²⁸ (Esquema 1.2.1.1)



Clave: *i.*- Et₃N, AcOEt

Esquema 1.2.1.1. Preparación de **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)**

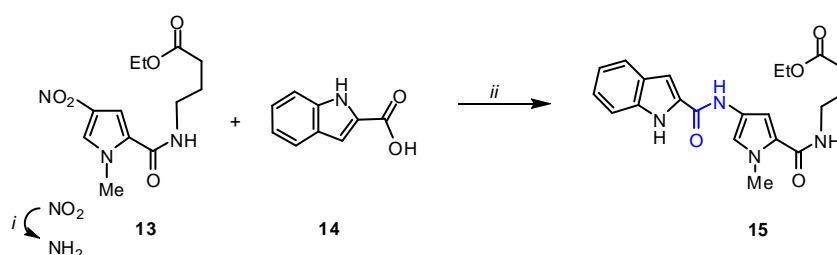
La reacción se realizó a una escala de 20 g de 2,2,2-tricloro-1-(1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-il)etanona (**11**). Es importante destacar que se ha escalado al doble la reacción respecto a las cantidades descritas en la literatura,^{6c} consiguiendo mejorar el rendimiento de un 75 % a un rendimiento cuantitativo.

1.2.2. Preparación del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** (Esquema 1.2.2.)

El ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** se preparó mediante una secuencia de tres etapas a partir del éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)**.

²⁸ Los datos espectroscópicos de **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)** concuerdan con los descritos en la literatura; ver referencia 6.c.

Las dos primeras etapas de la secuencia consistieron en la reducción del grupo nitro presente en el éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂** (**13**) a amina y posterior acoplamiento de ésta y el ácido *1H*-indol-2-carboxílico (**14**). (Esquema 1.2.2.1.)



Clave: *i.*- NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH; *ii.*- DIPC, HOBT, DMF, CH₂Cl₂.

Esquema 1.2.2.1. Preparación de **EtO- γ -Py(A)-Ind** (**15**)

En general, la reducción de un grupo nitro a amina presente en un pirrol, requiere que los tiempos de reacción sean cortos ya que las aminas correspondientes son inestables y descomponen gradualmente con el tiempo en los medios de reacción.^{6c}

Se ensayaron varios procedimientos sintéticos para la reducción del grupo nitro a amina: a) hidrogenación catalítica con Pd/C (5%) en MeOH^{5, 6} b) hidracina monohidratada/CuSO₄²³ c) NaBH₄ y Pd/C (5%) en una mezcla AcOEt/EtOH²⁵. El primer procedimiento requirió tiempos de reacción superiores a 24 horas observándose mediante TLC (hexano/AcOEt (1:2)) una extensa descomposición de la correspondiente amina. El segundo procedimiento no condujo a reacción. Por su parte, el tercer procedimiento, tras una hora de reacción, filtrado sobre

celita y tras eliminación del disolvente, condujo a la correspondiente amina que se empleó en el proceso de acoplamiento sin posterior purificación.

El éster **EtO- γ -Py(A)-Ind (15)** se preparó mediante reacción de acoplamiento entre la amina **EtO- γ -Py(A)-NH₂** (obtenida por el procedimiento c, anteriormente descrito) y el ácido 1*H*-indol-2-carboxílico (**14**) en presencia de HOBt y DIPC^{6c, 12} empleando DMF como disolvente. Después de agitar la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, sucesivos lavados y tras purificación cromatográfica, se obtuvo el **EtO- γ -Py(A)-Ind (15)**²⁹ como sólido blanco.³⁰ (Esquema 1.2.2.1.)

Uno de los mayores problemas experimentales encontrados en esta etapa fue la separación del **EtO- γ -Py(A)-Ind (15)** y de la di-*isopropilurea* (DIPU) que proviene de la oxidación de la DIPC. Tras ensayar diversos eluyentes³¹ se consiguió una purificación parcial con al menos dos purificaciones cromatográficas empleando sucesivamente como eluyentes hexano/acetona en proporciones (2:1) y (1:1).

La tercera etapa de la secuencia de formación del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** consistió en la hidrólisis del éster **EtO- γ -Py(A)-Ind (15)** empleando LiOH·H₂O³² en una mezcla THF/H₂O (1.3/1) a temperatura ambiente. Tras

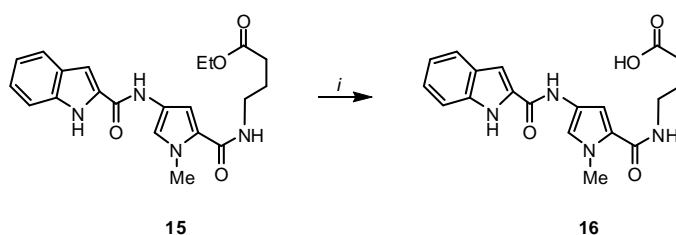
²⁹ Rdto del 70% determinado por RMN ya que la muestra se encuentra parcialmente impurificada por DIPU.

³⁰ El etil éster **15** puede obtenerse tras sucesivas (al menos dos) purificaciones cromatográficas en hexano/acetona (2:1 y 1:1).

³¹ Eluyentes probados en la purificación: CH₂Cl₂:MeOH (40:1), hexano:AcOEt (1:1), (1:2), (1:3).

³² a) Corey, E. J.; Narasaka, K.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 6417-6418. b) Dayal, B.; Salen, G.; Toome, B.; Tint, G. S.; Shefer, S.; Padia, J. *Steroids*, **1990**, 55, 233-237.

purificación cromatográfica³³ el ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** se obtiene con un 95% de rendimiento como un sólido blanco. (Esquema 1.2.2.2)



Clave: *i*.- LiOH·H₂O, THF/H₂O

Esquema 1.2.2.2. Preparación de **HO-γ-Py(A)-Ind (16)**

Es importante resaltar que el ácido **16** se obtiene puro a partir del éster **13** con un rendimiento global de las tres etapas del 63 %.

En el espectro de ¹H-RMN en DMSO-d₆ del ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** las señales observadas a 1.72 ppm, 2.23 ppm y 3.19 ppm se asignaron a los metilenos del fragmento γ amino butírico en base al espectro HSQC-editado debido a que estas señales en el espectro aparecen en antifase a las demás señales. El doblete a 7.46 ppm (*J* = 8.3 Hz) se asignó al H-7 del indol debido a la existencia de un pico de cruce en el espectro NOESY entre esta resonancia y la señal correspondiente al NH-1 (a 11.74 ppm). A partir de éste se asignaron las resonancias correspondientes a H-6, H-5 y H-4 del indol haciendo uso del espectro 2D-COSY, así el doble doblete a 7.19 ppm (*J* = 1.0 Hz, *J* = 7.1 Hz,

³³ La eliminación completa de la DIPU producida en la etapa anterior se lleva a cabo por purificación cromatográfica. En AcOEt (100%) primero eluye la DIPU y posteriormente en AcOEt/MeOH (4:1) eluye puro el ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)**.

$J = 8.1$ Hz) se asignó al H-6 del indol, el doble doblete a 7.04 ppm ($J = 0.8$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 7.9$ Hz) se asignó al H-5 del indol y el doblete a 7.64 ppm ($J = 8.0$ Hz) se asignó al H-4 del indol. La señal a 7.30 se asignó a los protones H-3 del indol (debido a la existencia de un pico de cruce en el espectro NOESY entre éste y el NH-2 (singlete a 10.42 ppm)) y al H-5 del pirrol (debido a la existencia de una señal de cruce en el espectro NOESY entre éste y el grupo metilo del pirrol (singlete observado a 3.83 ppm)). El doblete observado a 6.90 ppm ($J = 1.9$ MHz) se asignó al H-3 del pirrol, éste da una señal de cruce en el espectro NOESY con el NH-2 (singlete a 10.42 ppm) y con el triplete a 8.20 ppm ($J = 5.0$ Hz) que se asignó al NH-3.

En la figura 1.2.2. se muestran las resonancias de ^1H y ^{13}C -RMN para el ácido **16** en DMSO- d_6 .

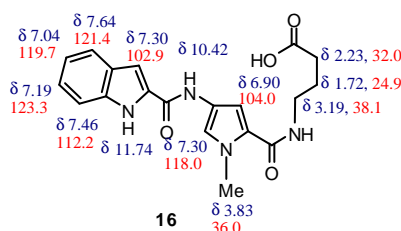


Figura 1.2.2. Resonancias de ^1H (en azul) y ^{13}C -RMN (en rojo) para el compuesto **16** en DMSO- d_6

El espectro de UV del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** en tampón fosfato (con un 7% de DMSO) muestra una banda entre 265-375 nm con un máximo de absorción a 295 nm, que corresponde al solapamiento de la absorción de los dos cromóforos (Ind y Py(A)) presentes en su estructura.

1.2.3. Preparación de los equivalentes sintéticos del pirrol B (Estructura V, Esquema 1.2.2)

Los equivalentes sintéticos del pirrol B (Estructura V) son: **MeO-Py(B)-NO₂** (**17**), **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**18**) y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂** (**19**). (Figura 1.2.3.)

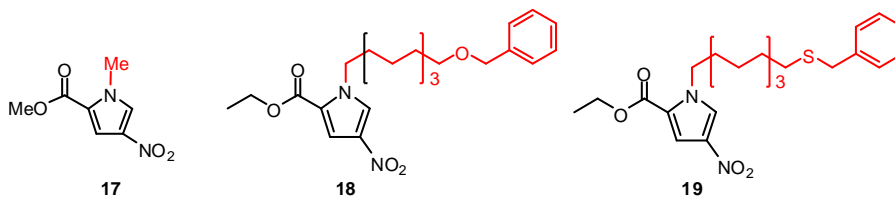
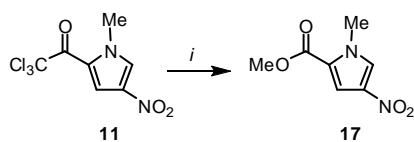


Figura 1.2.3. Equivalentes sintéticos del pirrol B (Estructura V): **MeO-Py(B)-NO₂** (**17**), **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**18**) y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂** (**19**)

1.2.3.1. Preparación de **MeO-Py(B)-NO₂** (**17**)^{15a}

El *N*-metil-4-nitropirrol-2-carboxilato (**17**) se preparó a escala de gramos en el laboratorio. El tratamiento del 2,2,2-tricloro-1-(1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-il)etanona (**11**)^{15a} con MeONa en metanol, condujo al **MeO-Py(B)-NO₂** (**17**) como un sólido blanco con un 97% de rendimiento. (Esquema 1.2.3.1.)

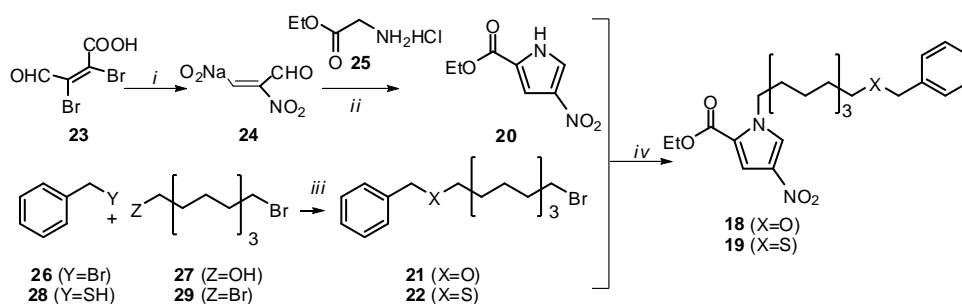


Clave: *i.*- MeONa, MeOH

Esquema 1.2.3.1. Preparación de **MeO-Py(B)-NO₂** (**17**)^{15a}

1.2.3.2. Preparación de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁XBn]NO₂** (X = O (**18**); X = S (**19**))

Para la preparación de los *N*-alquil pirroles **18** y **19** previamente se sintetizaron el 4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (**20**) y los bromuros **21** y **22**. (Esquema 1.2.3.2.)



Clave: *i.*- NaNO₂, H₂O, etanol; *ii.*- **25**, NaOH, etanol; Preparación de **21**: *iii.*- **26**, **27**, NaH, THF.; Preparación de **22**: *iii.*- **28**, **29**, MeONa, MeOH; *iv*) K₂CO₃, Bu₄NI, CH₃CN

Esquema 1.2.3.2. Preparación de los pirroles **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁XBn]-NO₂** (X = O (**18**); X = S (**19**))

En la tabla 1.2.3.2 se muestran las condiciones de reacción para la obtención de los compuestos **21**, **22**, **18** y **19**.

Tabla 1.2.3.2. Condiciones de reacción para la obtención de los compuestos **21**, **22**, **18** y **19**.

Reactivo 1	Reactivo 2	Condiciones	Producto	Rendimiento
26	27	<i>iii.</i> - NaH, THF	21	70%
28	29	<i>iii.</i> - MeONa, MeOH	22	84%
21	20	<i>iv.</i> - K ₂ CO ₃ , Bu ₄ Nl, CH ₃ CN	18	65%
22	20	<i>iv.</i> - K ₂ CO ₃ , Bu ₄ Nl, CH ₃ CN	19	63%

El nitropirrol **20**³⁴ se preparó mediante una secuencia de dos etapas. (Esquema 1.2.3.2)

La primera etapa de la secuencia consistió en la preparación de la sal sódica **24** a partir de ácido mucobromico³⁵ (**23**). Para ello se disuelve NaNO₂ en H₂O. Se calienta a 50 °C y se va añadiendo lentamente una disolución de **23** en etanol. Es muy importante realizar la adición lentamente para mantener la temperatura a 50 °C, ya que la reacción es exotérmica y se pueden producir aumentos bruscos de temperatura que disminuyen el rendimiento de la reacción. Una vez terminada la adición del compuesto **23**, la mezcla se enfría a 0 °C y el precipitado que se forma se redissuelve en una mezcla etanol/H₂O y se precipita a

³⁴ a) Morgan, K.J.; Morrey, D. P. *Tetrahedron*, **1966**, 22, 57-62. b) Lee, M.; Coulter, D. M.; Lown J. W. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1855-1859.

³⁵ Número CAS: 488-11-9; catálogo Sigma-Aldrich; **2009**, ref: M89625-25G, 18.80 E.

0 °C. Por filtración se obtiene así la sal sódica **24** como un sólido de color naranja con un 54% de rendimiento.

La segunda etapa consistió en la reacción de la sal **24** y el hidrocloreto del éster etílico de glicina (**25**)³⁶ en etanol en presencia de NaOH para obtener el nitropirrol **20** con un 48% de rendimiento.

A pesar de que el rendimiento global de estas dos etapas de reacción es de un 30%, este es el método que, en nuestro criterio, resulta más asequible y barato para la preparación de 4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (**20**) en la escala de 5 gramos.³⁷

La bencilación del 11-bromoundecan-1-ol (**27**) se realizó con bromuro de bencilo (**26**) y NaH (suspensión en aceite mineral al 60%)³⁸, en THF para obtener el 11-Bromo-1-*o*-bencilundecano (**21**)³⁹, en un 70% como un aceite. (Esquema 1.2.3.2)

Por su parte, el 1-bencilmercapto-11-bromo-undecano (**22**) se preparó siguiendo un procedimiento experimental descrito⁴⁰. Se añade una disolución de 1,11-dibromoundecano (**29**) en metanol a una disolución previamente enfriada a 0°C de fenilmetanotiol (**28**) y MeONa en metanol. Después de la adición de **29**, se deja subir hasta temperatura ambiente y se agita la mezcla de reacción 4 días. Se obtiene el 1-bencilmercapto-11-bromo-undecano (**22**) con un rendimiento del 84% como un aceite. (Esquema 1.2.3.2)

La reacción de alquilación del 4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (**20**) con cualquiera de los haluros, el 11-bromo-1-*o*-bencilundecano (**21**) y el 1-bencilmercapto-11-bromo-undecano (**22**), mediante una reacción de transferencia

³⁶ Número CAS: 623-33-6; catálogo Sigma-Aldrich; **2009**, ref: G6503-100G-A 25.60 E.

³⁷ El 4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (**20**) es comercial. Número CAS: 5930-92-7; Activate Scientific GmbH; 2009, 1 g, 260.60 €.

³⁸ Previamente lavado con hexano.

³⁹ Cloux, R.; Défayes, G.; Fóti, K.; Dutoit, J-C.; Kováts, E. *Synthesis*, **1993**, 909-919.

⁴⁰ Birkofer, L; Morgenroth, K.; *Chem. Ber.* **1963**, 96, 1909-1915.

de fase ($\text{Bu}_4\text{N}^+\text{X}^-$; $\text{X}^- = \text{Br}^-$ o I^- ; K_2CO_3 en acetonitrilo) condujo tras aislamiento y purificación a los correspondientes *N*-alquil nitropirroles **18** y **19** como sólido blanco y un aceite, respectivamente, con unos rendimientos del 65 % y 63%.^{41, 42} (Esquema 1.2.3.2)

En la figura 1.2.3.2. se muestran las resonancias más significativas en CDCl_3 asignadas a los grupos metilenos del *N*-alquil sustituyente de los nitropirroles **18** y **19**.

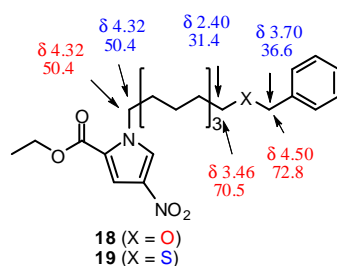


Figura 1.2.3.2. Resonancias de ^1H y de ^{13}C -RMN en CDCl_3 asignadas a los grupos metilenos del *N*-alquil sustituyente de los nitropirroles **18** y **19**.

1.2.4. Preparación de los equivalentes sintéticos de los ácidos oligoamídicos II (Compuestos **33**, **34** y **35**) (Esquema 1.2.2)

Los ácidos **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**, **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (34)** y **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (35)** (Figura 1.2.4.1.) se

⁴¹ Tanto el 4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (**20**) como los haluros **21** y **22** se recuperan en un 30 %.

⁴² El intento de mejorar el rendimiento de la reacción de alquilación en el caso de la obtención del nitro pirrol **18** calentando a 50 °C fue infructuosa. Por otra parte, tras purificación por cromatografía, estos compuestos pueden ser usados de nuevo sucesivas veces

prepararon mediante una secuencia de tres etapas a partir del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** y de los correspondientes equivalentes sintéticos del pirrol B (compuestos **17**, **18** y **19** respectivamente).

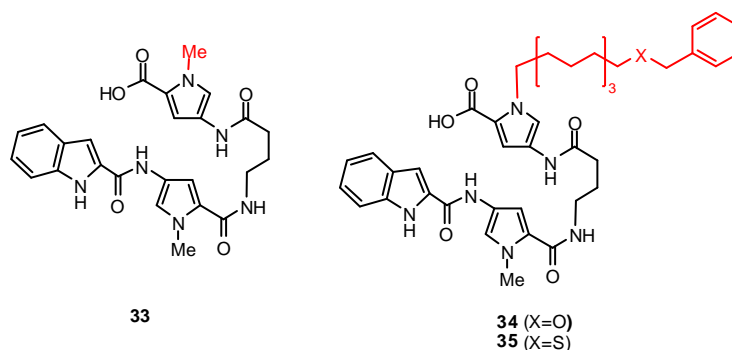
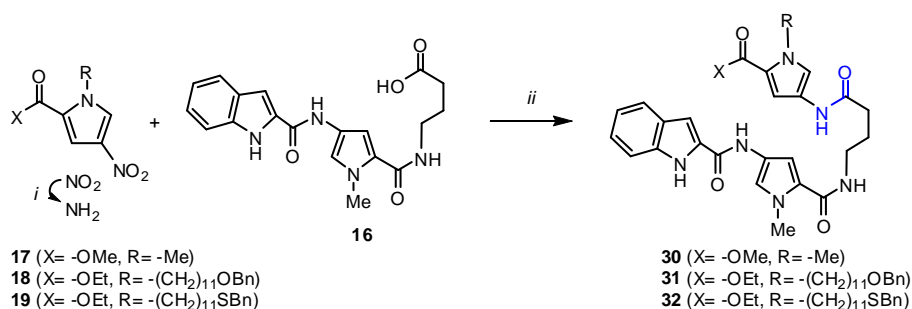


Figura 1.2.4.1. Ácidos oligoamídicos II (compuestos **33-35**)

La primera etapa de la secuencia consistió en la reducción de los nitropirroles **17**, **18** y **19**, respectivamente a sus correspondientes aminas, empleando el mismo procedimiento que en el caso de la reducción del grupo nitro del éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13)** (NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH). La segunda etapa implica el acoplamiento de las aminas correspondientes obtenidas y el ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** empleando HOBt/DIPC como activantes en DMF. Tras aislamiento y purificación se obtuvieron los ésteres: **MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (30)**, **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (31)** y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (32)** como sólidos blancos en el caso de **30** y **31** y como un aceite en el caso de **32**, con rendimientos del 62, 65 y el 32 %, respectivamente. (Esquema 1.2.4.1.)



Clave: *i.*- NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH; *ii.*- DIPC, HOBt, DMF

Esquema 1.2.4.1. Esquema general para la preparación de los ésteres **30**, **31** y **32**.

Cabe destacar que la diferente solubilidad de los ésteres sintetizados, MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (**30**) y EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (**31**), atribuida al sustituyente del N del pirrol B, no parece influir en el rendimiento de la reacción (62 y 65% respectivamente). Por otro lado, el éster EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (**32**) se obtuvo con un rendimiento global bastante inferior (32%); una explicación a este bajo rendimiento puede ser debida a que exista un envenenamiento del catalizador empleado en la reducción del nitro pirrol EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂ (**19**) por lo que sería necesaria una optimización en del método de reducción para este compuesto.

En la figura 1.2.4.2. se muestran las resonancias más significativas de ¹H-RMN para el éster **30** en DMSO-d₆ y las resonancias de ¹H y de ¹³C-RMN correspondientes a los grupos metilenos de los *N*-alquil sustituyentes de los ésteres **31** y **32** en acetona-d₆ y CDCl₃ respectivamente.

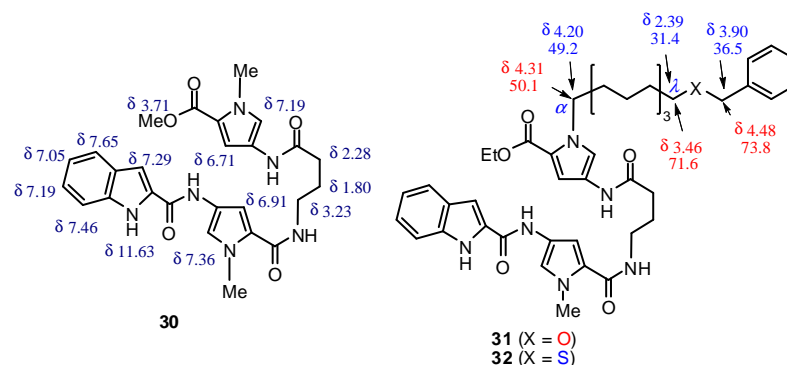


Figura 1.2.4.2. Resonancias más significativas de ^1H -RMN para el compuesto **30** en DMSO-d_6 y resonancias de ^1H y de ^{13}C -RMN asignadas a los grupos metilenos de los *N*-alquil sustituyentes de los ésteres **31** y **32** en acetona- d_6 y CDCl_3 respectivamente.

En el espectro de ^1H -RMN del éster oligoamídico **30** en DMSO-d_6 ,⁴³ el triplete a 1.80 ppm ($J = 7.2$ Hz) se asignó al $\text{CH}_2\gamma_b$, el triplete a 2.28 ppm ($J = 7.2$ Hz) se asignó al $\text{CH}_2\gamma_c$, mientras que el cuarteto a 3.23 ppm ($J = 6.6$ Hz) se asignó al $\text{CH}_2\gamma_a$; el singlete a 3.71 ppm se asignó al Me del grupo éster; los singletes a 3.80 ppm y 3.84 ppm se asignaron a los Me de los pirroles; el doblete a 6.71 ppm ($J = 1.9$ Hz) se asignó al H-3 del pirrol A, el doblete a 6.91 ppm ($J = 1.8$ Hz) se asignó al H-3 del pirrol B, el doble triplete a 7.05 ppm ($J = 0.7$ Hz, $J = 7.9$ Hz) se asignó al H-5 del indol, el doble triplete a 7.19 ppm ($J = 1.0$ Hz, $J = 8.2$ Hz) se asignó al H-6 del indol, la señal a 7.29 ppm se asignó a las resonancias del H-5 del pirrol B y al H-3 del indol, el doblete a 7.36 ppm ($J = 1.9$ Hz) se asignó al H-5 del pirrol A, el doble doblete a 7.46 ppm ($J = 0.6$ Hz, $J = 8.2$ Hz) se asignó al H-7 del indol, el doblete a 7.65 ($J = 8.0$ Hz) se asignó al H-4 del indol, el triplete a 8.13 ppm ($J = 5.6$ Hz) se asignó al NH-3, el singlete ancho a 9.91

⁴³ Para la numeración de los compuestos ver el apartado *Nomenclatura*.

ppm se asignó al NH-4, el singlete ancho a 10.33 ppm se asignó al NH-2; mientras que el doblete a 11.63 ppm ($J = 1.4$ Hz) fue asignado al NH-1.⁴⁴ (Figura 1.2.4.2.)

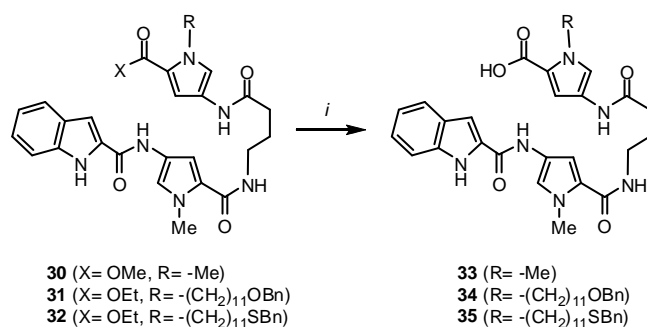
El espectro de ^1H -RMN del éster **31** en acetona- d_6 ,⁴³ tanto la zona aromática como las señales correspondientes al aminoácido γ , tiene el mismo perfil que el del éster **30**. El cuartete a 4.22 ppm ($J = 7.1$ Hz, $J = 7.1$ Hz) se asignó al CH_2 del grupo éster ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}$) en base al espectro HSQC-editado debido a que los grupos metileno aparecen en antifase respecto a los grupo metilo y metino y debido a la existencia de una señal de cruce en el espectro COSY entre esta resonancia y el CH_3 del grupo éster ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}$). Las señales de ^1H -RMN y de ^{13}C -RMN más características de los metilenos son el singlete a 4.48 ppm y la señal a 73.8 ppm que se asignaron a los protones y carbono del CH_2 del grupo bencilo respectivamente, en base a la existencia de una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia (CH_2) y la resonancia correspondiente a los protones aromáticos del bencilo. El triplete a 3.46 ppm ($J = 6.5$ Hz) y la señal a 71.6 ppm que se asignaron a los protones y carbono del CH_2 λ de la cadena respectivamente, en base al apantallamiento producido por el oxígeno y a la existencia de picos de cruce en el espectro TOCSY entre esta resonancia y los demás metilenos de la cadena alquílica. El multiplete observado a 4.31 ppm y la señal observada a 50.07 ppm se asignaron a los protones y carbono del CH_2 α de la cadena, respectivamente, en base al apantallamiento producido por el N y a la existencia de picos de cruce en el espectro TOCSY entre esta resonancia y los demás metilenos de la cadena alquílica. (Figura 1.2.4.2.)

En el caso del éster 32 las diferencias más significativas con el éster 31 se encuentran en los desplazamientos químicos de las resonancias de los CH_2 contiguos al azufre. En los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del éster **32** en

⁴⁴ La asignación de las resonancias se apoyó en los espectros bidimensionales COSY, HSQC y HMBC.

CDCl_3 ⁴³, las resonancias a 3.90 ppm (singlete) y 36.5 ppm se asignaron al CH_2 del grupo bencilo respectivamente, en base al apantallamiento producido por el azufre y a la existencia de una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia (CH_2) y la resonancia correspondiente a los protones aromáticos del bencilo. El triplete a 2.39 ppm ($J = 7.3$ Hz) y la resonancia a 31.4 ppm se asignaron al CH_2 λ de la cadena en base al espectro HSQC-editado y al apantallamiento producido por el S. (Figura 1.2.4.2.)

La tercera etapa de la secuencia de síntesis consistió en la hidrólisis del grupo éster de los compuestos **MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (30)**, **EtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (31)** y **EtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (32)** a sus correspondientes ácidos. Ésta se realizó empleando $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ en una mezcla dioxano/ H_2O (1/1) a temperatura ambiente. Para esta reacción fue necesario el uso de 30 equivalentes de $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Esquema 1.2.4.2). Tras aislamiento y purificación se obtuvieron los diferentes ácidos oligoamídicos: **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**, **HO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (34)**, **HO-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (35)** (Figura 1.2.4.1.) como sólidos blancos en el caso de los ácidos **33** y **34** y como un aceite en el caso del ácido **35**, con rendimientos del 91%, 90% y 85%, respectivamente.



Clave: *i*.- LiOH·H₂O, dioxano, H₂O

Esquema 1.2.4.2. Esquema general para la preparación de los ácidos oligoamídicos **33**, **34** y **35**.

En los espectros de masas⁴⁵, se observa en los tres casos los picos correspondientes al peso molecular de los ácidos menos una unidad, característico de la pérdida de un protón de los ácidos carboxílicos (m/z 489, m/z 735.3 y m/z 751.1 para los ácidos **33**, **34** y **35**, respectivamente).

En los espectros de IR se observa en los tres casos (ácidos **33**, **34** y **35**) una banda ancha a 3440, 3434 y 3391 cm⁻¹ respectivamente, característica de los ácidos carboxílicos.

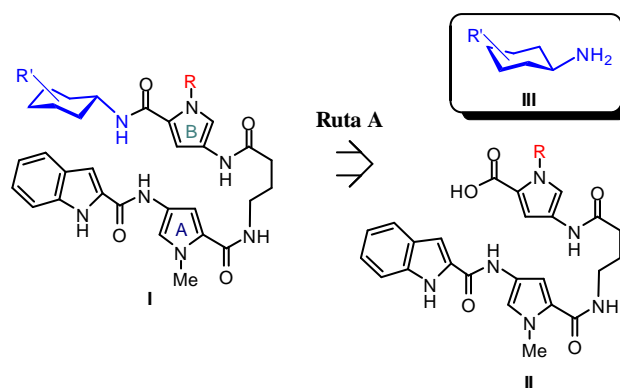
Por último, los ácidos **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**, **HO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (34)** y **HO-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (35)** se obtienen puros a partir del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** con rendimientos globales de las tres etapas del 57%, 57% y 30%, respectivamente.

⁴⁵ *API-ES* modo negativo.

De esta manera se han obtenido los ácidos oligoamídicos **II** (HO-Py(*B*)[*R*]- γ -Py(*A*)-Ind) en cantidades suficientes⁴⁶ como para abordar la síntesis de las correspondientes glico-oligoamidas **I** (Esquema 1.2.1.) variando los carbohidratos que se acoplan a éstos ácidos.

1.2.5. Preparación de las aminas anoméricas **III** (Esquema 1.2.5.)

Según el esquema retrosintético para la síntesis de glico-oligoamidas (**I**) por la **Ruta A**, una vez sintetizados los correspondientes ácidos oligoamídicos de estructura **II**, se requiere preparar las aminas **III** convenientemente protegidas. Además, se preparó la correspondiente oligoamida derivada de la ciclohexilamina (cHx-NH₂) como compuesto modelo para estudios de reactividad, estructurales y de interacción con el ADN. (Esquema 1.2.5.)



Esquema 1.2.5. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas (I)** por las **Ruta A**. **R** = -Me, -(CH₂)₁₁OH, -(CH₂)₁₁OBn, -(CH₂)₁₁SBn; **aminas de fórmula general III**: cHx-NH₂ (**51**), (AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₃- β -L-Fuc-NH₂ (**37**), (AcO)₄- β -Glc-NH₂ (**38**), (AcO)₄- β -Gal-NH₂ (**39**).

⁴⁶ Se han obtenido a escala de 2.00, 1.5 y 0.230 g los ácidos **HO-Py(*B*)- γ -Py(*A*)-Ind** (**33**), **HO-Py(*B*)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(*A*)-Ind** (**34**) y **HO-Py(*B*)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(*A*)-Ind** (**35**) respectivamente.

Por otro lado, han sido tres los motivos que han llevado a elegir el grupo acetato como protector de todos los hidroxilos presentes en los correspondientes aminoazúcares:

- En estudios previos del grupo de investigación¹⁸ se había demostrado que su desprotección con MeONa/MeOH es compatible con la estabilidad química del fragmento **–Py(B)–γ-Py(A)–Ind.**
- En general, la desprotección de grupos acetato no induce epimerización del centro anomérico.⁴⁷
- Es compatible con la estrategia y tácticas generales empleadas en la preparación de los correspondientes azido y aminoazúcares (Esquema 1.2.5.1.)

Los acetil aminoazúcares **III** sintetizados son: (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (**38**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**). (Figura 1.2.5.1.)

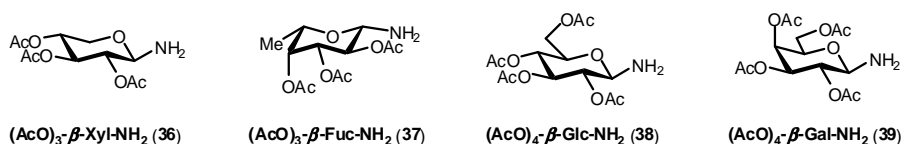
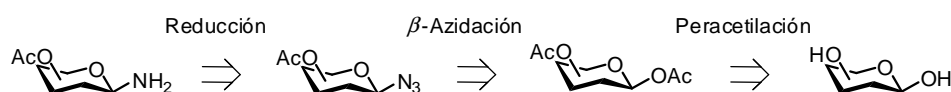


Figura 1.2.5.1. Acetil aminoazúcares **III** sintetizados derivados de xilosa (**36**), fucosa (**37**), glucosa (**38**), galactosa (**39**).

La estrategia general empleada para la síntesis de los aminoazúcares protegidos implica una secuencia de tres etapas a partir de los correspondientes

⁴⁷ Hong, F.; Fan, E. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 6073-6076.

azúcares con los hidroxilos libres correspondientes, tal y como se muestra en el esquema retrosintético. (Esquema 1.2.5.1)



Esquema 1.2.5.1. Esquema retrosintético para la preparación de los acetil aminoazúcares **36-39**.

En el caso de xilosa y fucosa los compuestos tetraacetilados **(AcO)₄-β-D-Xyl** y **(AcO)₄-β-L-Fuc** se obtuvieron a partir de los compuestos desprotegidos **(HO)₄-D-Xyl**⁴⁸ y **(HO)₄-L-Fuc**⁴⁹ respectivamente por tratamiento de éstos con AcONa/anhidrido acético con rendimientos del 80 y del 90%, respectivamente.

En el caso de glucosa y galactosa los compuestos peracetilados son comerciales **(AcO)₅-β-D-Glc**⁵⁰, **(AcO)₅-β-D-Gal**⁵¹.

La segunda etapa de la secuencia fue la preparación de las correspondientes β-azidas anoméricas.

El tratamiento de los compuestos tetraacetilados **(AcO)₄-β-D-Xyl** y **(AcO)₄-β-L-Fuc** con trimetil silil azida (**TMSN₃**⁵²) activada por perclorato de plata (**AgClO₄**) condujo a las correspondientes β-azidas anoméricas correspondientes **(AcO)₃-β-D-Xyl-N₃** (**36.b**) y **(AcO)₃-β-L-Fuc-N₃** (**37.b**) con rendimientos del 92 y 85%, respectivamente.

⁴⁸ Número CAS: 58-86-6; catálogo Sigma-Aldrich; **2009**, ref: X1500-500G, 137.80 €.

⁴⁹ Número CAS: 2438-80-4; catálogo Sigma-Aldrich; **2009**, ref F2252-5G, 122.50 €.

⁵⁰ Número CAS: 604-69-3; catálogo Sigma-Aldrich; **2009**, ref 285943-100G, 60.70 €.

⁵¹ Número CAS: 4163-60-4; catálogo Sigma-Aldrich; **2009**, ref 134031-25G, 61.80 €.

⁵² Matsubara, K.; Mukaiyama, T. *Chem. Lett.* **1994**, 247-250.

Para el caso de glucosa y galactosa, la preparación de las azidas se llevó a cabo por tratamiento de los compuestos peracetilados (AcO)₅-β-D-Glc y (AcO)₅-β-D-Gal con SnCl₄, AgClO₄ y TMSN₃.⁵³ Se obtuvieron las β-azidas correspondientes (AcO)₄-β-D-Glc-N₃ (38.b) y (AcO)₄-β-D-Gal-N₃ (39.b) como sólidos blancos con rendimientos del 98 y 85%, respectivamente.

La tercera etapa de la secuencia fue la hidrogenación del grupo azida para obtener la amina correspondiente.⁵⁴ El procedimiento experimental general consistió en poner bajo atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica las azidas (AcO)₃-β-D-Xyl-N₃ (36.b), (AcO)₃-β-L-Fuc-N₃ (37.b), (AcO)₄-β-D-Glc-N₃ (38.b) y (AcO)₄-β-D-Gal-N₃ (39.b) disueltas en CH₂Cl₂ anhidro y emplear Pd/C (5%) como catalizador. Tras aislamiento y purificación mediante cromatografía en gel de sílice se obtuvieron las correspondientes aminas: (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)⁵⁵, (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (37), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (38)⁵⁶ y (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39)⁵⁷ como sólidos blancos con rendimientos del 60, 80, 85 y 80%, respectivamente. Es importante resaltar que la reacción transcurre en todos los casos con retención de la configuración del centro anomérico.

Las aminas resultaron ser estables en las condiciones de purificación por cromatografía así como al paso del tiempo si se conservan a 4-5 °C, aproximadamente, por lo que pudieron ser preparadas a escala de gramos en el laboratorio.

⁵³ Paulsen, H.; Györgydeák, Z.; Friedman, M. *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1568-1578.

⁵⁴ Referencias para la obtención de aminas a partir de la reducción de sus correspondientes azidas: Rao, C. S.; Ratcliffe, A. J.; Fraser-Reid, B. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, **1993**, 1207-1211.

⁵⁵ Paulsen, H.; Györgydeák, Z.; Friedmann, M. *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1590-1613.

⁵⁶ a) Babiano Caballero, R.; Fuentes Mota, J.; Galbis Pérez, J. A. *Carbohydrate Research*, **1986**, *154*, 280-288. b) Shiozakia, M.; Mochizukia, T.; Hanzawab, H.; Haruyama, H. *Carbohydrate Research*, **1996**, *288*, 99-108.

⁵⁷ Jarrahpour, A.A.; Shekarriz, M.; Taslimi, A. *Molecules*, **2004**, *9*, 29-38.

Un resumen de los datos espectroscópicos de las aminas **36-39** se muestran en la figura 1.2.5.2, en ella aparecen las resonancias asignadas a los protones anoméricos y las constantes de acoplamiento entre los protones H-1 (protón anomérico) y H-2 ($J_{1,2}$). Tanto los desplazamientos químicos como las constantes de acoplamiento $J_{1,2}$ han permitido asignar la configuración β al carbono anomérico. (Figura 1.2.5.2.)

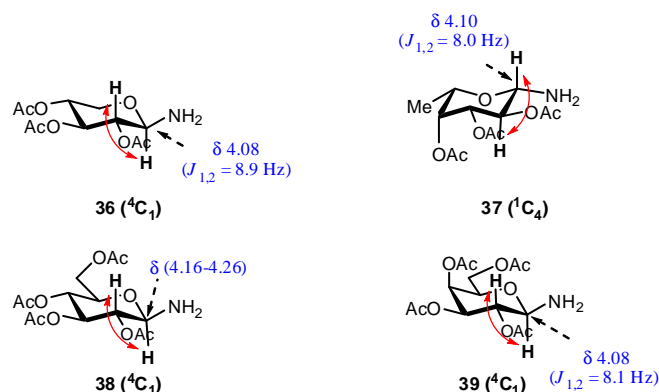


Figura 1.2.5.2. Desplazamientos químicos y constante de acoplamiento $J_{1,2}$ de las señales correspondientes a las resonancias de los protones anoméricos de los aminoazúcares $(\text{AcO})_3$ - β -Xyl-NH₂ (**36**), $(\text{AcO})_3$ - β -L-Fuc-NH₂ (**37**), $(\text{AcO})_4$ - β -Glc-NH₂ (**38**) y $(\text{AcO})_4$ - β -Gal-NH₂ (**39**) en CDCl₃.

De acuerdo a la bibliografía, las aminas **36-39** obtenidas son monoconformacionales.⁵⁸ Por otro lado, en el caso de $(\text{AcO})_3$ - β -Xyl-NH₂ (**36**), $(\text{AcO})_4$ - β -Glc-NH₂ (**38**) y $(\text{AcO})_4$ - β -Gal-NH₂ (**39**) las constantes de acoplamiento medidas⁵⁹ concuerdan con una conformación 4C_1 , en la que la mayoría de los

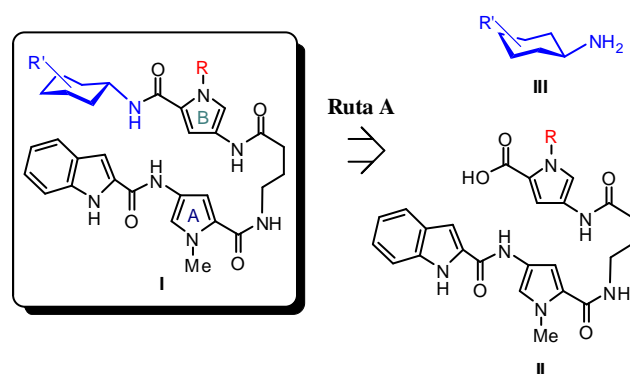
⁵⁸ Para ver la conformación de la $(\text{AcO})_3$ - β -Xyl-NH₂ (**36**) ver ref 55; para ver la conformación de $(\text{AcO})_5$ - β -Gal en disolución ver referencia: Roslund, M.; Klika, K. D.; Lehtila, R. L.; Tähtinen, P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 18-25.

⁵⁹ $(\text{AcO})_3$ - β -Xyl-NH₂ (**36**): $J_{1,2} = 8.9$ Hz, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5\text{ec}} = 5.7$ Hz, $J_{4,5\text{ax}} = 10.5$ Hz; $(\text{AcO})_4$ - β -Glc-NH₂ (**38**): $J_{1,2} = 9.9$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{4,5} = 9.9$ Hz; $(\text{AcO})_4$ - β -Gal-NH₂ (**39**): $J_{1,2} = 8.1$ Hz, $J_{2,3} = 10.4$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} = 1.0$ Hz.

sustituyentes están en posición ecuatorial⁶⁰; en el caso de (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**) las constantes de acoplamiento medidas⁶¹ concuerdan con la conformación ¹C₄, en este caso también es la conformación más estable.⁶²

1.2.6. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I (Esquema 1.2.6.1.)

Una vez obtenidos los ácidos oligoamídicos **II** y las aminas convenientemente protegidas **III**, es necesario desarrollar un método adecuado para la formación del enlace amidoglicosídico. (Esquema 1.2.6.1.)



Esquema 1.2.6.1. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas (I)** por las **Ruta A**. **R** = -Me, -(CH₂)₁₁OH, -(CH₂)₁₁OBn, -(CH₂)₁₁SBn; **aminas de fórmula general III**: cHx-NH₂ (**51**), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (**38**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**).

⁶⁰ Robyt, J. F. *Essentials of Carbohydrate Chemistry*, Ed. Springer, **1998**, 36-39.

⁶¹ (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**): $J_{1,2} = 8,00$ Hz, $J_{2,3} = 10,5$ Hz, $J_{3,4} = 3,00$ Hz, $J_{4,5} = 1,00$

⁶² Para definir las conformaciones de los anillos de cinco y seis miembros de los monosacáridos, ver: IUPAC-IUB, Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) *Eur. J. Biochem.* **1980**, *111*, 295-298

Con objeto de desarrollar un procedimiento aplicable para la síntesis de cualquier glico-oligoamida acetilada **tipo I**, se han de tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- a) La metodología a utilizar ha de ser lo más general posible de forma que se permita realizar acoplamientos de cualquier amina a cualquier tipo de ácido oligoamídico.
- b) La metodología a utilizar debe de ser compatible con los grupos protectores de los compuestos a acoplar. En este caso se han seleccionado como grupos protectores el grupo acetato para los carbohidratos y el grupo bencilo para el extremo de la cadena alquílica, presente en los ácidos **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁XBn]-γ-Py(A)-Ind (34-35)**; estos dos grupos protectores son ortogonales.⁶³
- c) Se requiere, en la medida de lo posible, que los reactivos utilizados para la formación del enlace amidoglicosídico no promuevan reacciones de anomerización, ya que de acuerdo al diseño anteriormente indicado, lo que se requiere es un enlace beta.

Con el fin de obtener un protocolo para establecer un procedimiento general de formación de enlace glicosídico entre cualquiera de los ácidos oligoamídicos **33-35** y cualquiera de las aminas **III** (incluida la cHx-NH₂) se realizó un estudio de diferentes métodos de acoplamiento tanto *in situ* como por preactivación del ácido.

⁶³ Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic Synthesis*; Wiley-Interscience: New York, 4^a Ed., **2007**

En general, los fluoruros de ácido y los ésteres derivados de HOBt y HOAt están entre los derivados de ácido más empleados para la formación de enlaces amida.⁶⁴

Por todo ello, se han analizado tres procedimientos para activar el ácido oligoamídico **33**. El procedimiento A consiste en la activación *in situ* del ácido **33**, el procedimiento B consiste en la formación del fluoruro de ácido y el procedimiento C consiste en la formación de los ésteres activados del HOBt⁶⁵ (ó HOAt) correspondientes. (Esquema 1.2.6.2.)

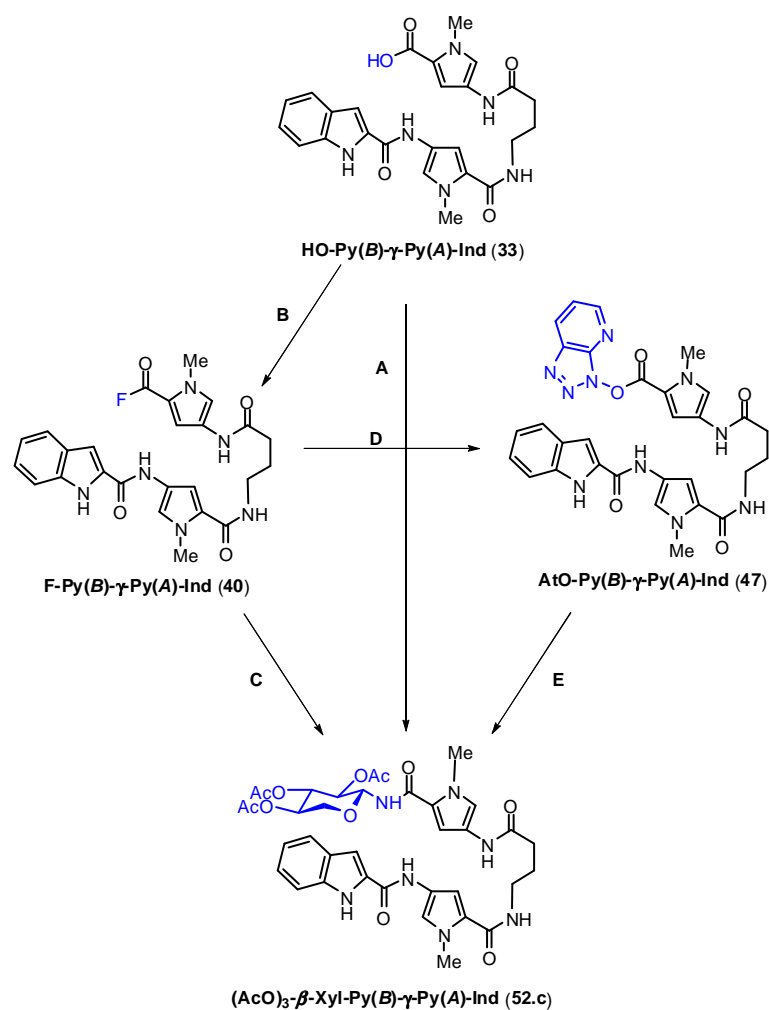
Con objeto de realizar el estudio, se ha considerado que el ácido **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)** y la amina anomérica **(AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)** son los más adecuados para emplearse como referencias de reactividad debido a su mayor accesibilidad sintética y simplicidad estructural.

⁶⁴ Para el empleo general de HOBt (o HOAt) y fluoruros de ácidos para la formación de enlaces amida ver ref. 2b. Para ver la formación de amidas anoméricas empleando derivados de HOBt ver: a) Rawe, S. L.; Doyle, D.; Zaric, V.; Rozas, I.; McMahon, K.; Tosin, M.; Bunz, H. M.; Murphy, E. P.; O'Boyle, K. M.; Murphy, P. V. *Carbohydrate Research*, **2006**, *341*, 1370-1390. b) Thiele, G.; Rottmann, A.; Germer, A.; Kleinpeter, E.; Spindler, K.-D.; Synstad, B.; Eijssink, V. G. H.; Peter, M. G. *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 471-489. Para ver formación de aminos anoméricos empleando otros métodos ver: c) He, Y.; Hinklin, R. J.; Chang, J.; Kiessling, L. L. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4479-4482. d) Nisic, F.; Bernardi, A. *Carbohydrate Research*, **2008**, *343*, 1636-1643. e) Nisic, F.; Andreini, M.; Bernardi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5744-5751. f) Murphy, E. P.; Bradley, H.; Tosin, M.; Pitt, N.; Fitzpatrick, G. M.; Glass, W. K. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5692-5704.

⁶⁵ Como ya se ha indicado anteriormente, el HOBt es uno de los aditivos más frecuentemente empleados para la formación de enlaces peptídicos: ver cita 3.

El protocolo experimental seguido con objeto de desarrollar un procedimiento aplicable para la síntesis de cualquier glico-oligoamida Tipo I fue: (Esquema 1.2.6.2.)

- A. Estudio de la reactividad del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** frente a **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**
- B. Preparación de **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** a partir del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**.
- C. Estudio de la reactividad del fluoruro de ácido **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** frente a **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**
- D. Preparación de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)** a partir del fluoruro de ácido **40** generado *in situ*.
- E. Estudio de la reactividad de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)** frente a **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**.
- F. Extensión del procedimiento a cualquiera de los ácidos oligoamídicos **34-35** y a todas las aminas anoméricas **III**.



Esquema 1.2.6.2. A) Estudio de la reactividad del ácido **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)** frente a **(AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)**. B) Activación del ácido **33** vía formación del fluoruro C) Activación del ácido **33** vía formación de los ésteres activados con HOBT o HOAt. D) Estudio de la reactividad del **F-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)** frente a **(AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)**. E) Estudio de la reactividad del **AtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (47)** frente a **(AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)**

A. Estudio de la reactividad del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** frente a **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**

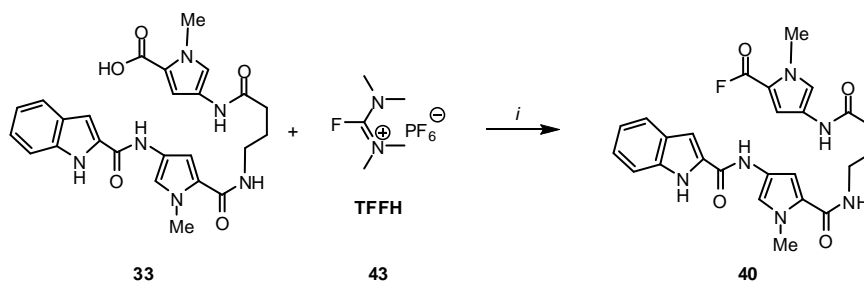
Se ensayaron las condiciones de activación con HOBt/DIPC en DMF como disolvente, que habían sido usadas en la preparación de **EtO- γ -Py(A)-Ind (15)**, **MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (30)**, **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (31)** y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁Sbn]- γ -Py(A)-Ind (32)**, como método para la formación del enlace amidoglicosídico entre el ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** y la amina **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**. Sin embargo, la reacción del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** y la amina **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)** en presencia de HOBt/DIPC en DMF no condujo al producto deseado, **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b)**.

B. Preparación de **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** a partir del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**⁶⁶

La reacción del ácido **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**, hexafluorofosfato de fluor-*N,N,N',N'*-tetrametilformamidinio (TFFH)^{66f-h} (**43**) y DIEA en DMF condujo tras eliminación del disolvente a presión reducida y purificación cromatográfica en gel de sílice al fluoruro **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** como un sólido blanco con un rendimiento del 95%.⁶⁷ (Esquema 1.2.6.3.)

⁶⁶ Existen diferentes métodos para la preparación de fluoruros de ácido a partir de ácidos carboxílicos: empleando trifluor dietilamina de azufre DAST: a) O'Sullivan, A. C.; Struber, F.; Ley, S. V. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6252-6256. b) Babu, V. V. S.; Gopi, H. N.; Ananda, K. *Indian J. Chem.* **2000**, *39B*, 384-386. c) Böttcher, C.; Burger, K. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9711-9714. d) White, J. M.; Tunooti, A. R.; Turunen, B. J.; Georg, G. I. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2573-2576. Empleando HF en piridina al 70%: e) Takanashi, S.; Mori, K. *Liebigs. Ann.* **1997**, 825-838. Empleando TFFH, BTFFH y DFI: f) Carpino, L. C.; El-Faham, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5401-5402. g) Fiammengo, R.; Licini, G.; Nicotra, A.; Modena, G.; Pasquato, L.; Scrimin, P.; Broxterman, Q. B.; Kaptein, B. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5905-5910. h) El-Faham, A. *Chem. Lett.* **1998**, *27*, 671-6672.

⁶⁷ Para la formación del fluoruro de ácido **40** se ensayaron previamente otros métodos: a) Cuando se empleó trifluoro de dietilaminoazufre (DAST) se recuperaba el ácido de partida **33** sin reaccionar. b) Cuando se empleó el hexafluorofosfato de fluor-*N, N, N', N'*-



Clave: *i*.- DIEA, DMF

Esquema 1.2.6.3. Preparación de F-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (40)

En el espectro de ^1H -RMN del fluoruro de ácido **40** en DMSO-d_6 ,⁶⁸ el fragmento del ácido γ-amino butírico se asignó en base al experimento COSY: el cuartete a 3.23 ppm ($J = 6.6$ Hz) se asignó al metileno γ_a en base a que se observa un pico de cruce de esta resonancia y el NH-3 (triplete a 8.11 ppm ($J = 5.7$ Hz)). A partir de CH_2 γ_a se asignaron secuencialmente el triplete a 1.80 ppm ($J = 7.2$ Hz) a γ_b y el triplete a 2.28 ppm ($J = 7.2$ Hz) a γ_c . El singlete a 3.83 ppm se asignó a los dos metilos de los pirroles A y B; se observa una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia y las señales correspondientes a los carbonos CH-5 de los pirroles A y B. El singlete a 10.08 ppm se asignó al NH-4, ya que se observa una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia y la señal correspondiente al metileno γ_c . A partir de este NH se asignaron el H-3 y el H-5 del pirrol B (doblete a 6.93 ppm ($J = 1.8$ Hz) y singlete a 7.65 ppm respectivamente) en base a los picos de cruce observados en los experimentos

tetrametilformamidinio (FDPP) se obtuvo el correspondiente éster **C₆F₅O-Py-γ-Py-Ind** en lugar del fluoruro deseado. c) Cuando se empleó HF-py se produjo la degradación del ácido de partida **33**.

⁶⁸ Para la numeración de los compuestos ver el apartado *Nomenclatura*.

HSQC y HMBC. El singlete a 10.30 ppm se asignó al NH-2; a partir de este NH se asignaron el H-3 y el H-5 del pirrol A (doblete a 6.89 ppm ($J = 1.8$ Hz) y singlete a 7.28 ppm respectivamente) en base a los picos de cruce observados en los experimentos HSQC y HMBC. Las resonancias de los protones del indol se asignaron en base a los picos de cruce observados en los espectros, COSY, HSQC y HMBC. El doblete a 7.65 ($J = 8.0$ Hz) se asignó al CH-4 del indol, ya que se observa una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia y las señales correspondientes a los carbonos C-7a y CH-6. El doblete a 7.46 ppm ($J = 0.6$ Hz, $J = 8.2$ Hz) se asignó al CH-7 del indol, ya que se observa una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia y las señales correspondientes a los carbonos C-3a y CH-5. A partir de éstos, en base al espectro COSY, se asignaron el triplete a 7.05 ppm ($J = 7.9$ Hz) y el triplete a 7.19 ppm ($J = 6.9$ Hz) al CH-5 y al CH-6 del indol respectivamente. El singlete a 11.61 se asignó al NH-1, ya que se observa una señal de cruce en el espectro HMBC entre esta resonancia y las señales correspondientes a los carbonos C-3a, C-7a y C-2 del indol. (Figura 1.2.6.1.) En el espectro de masas, se observa el pico m/z 493 que corresponde al peso molecular del compuesto **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** más un protón.

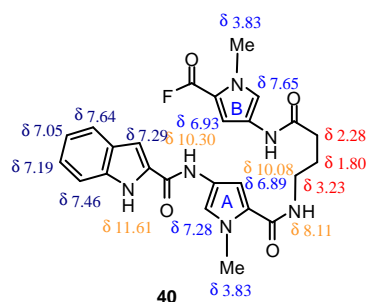


Figura 1.2.6.1. Resonancias de ^1H -RMN para el compuesto **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** en DMSO- d_6

Cabe destacar el efecto del átomo de fluor sobre las resonancias de los protones del pirrol B, que hace que estén más desapantalladas (H-3 a 6.93 ppm y H-5 a 7.65 ppm en **40**) que en los protones del pirrol B de los correspondientes **MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (30)** (H-3 a 6.64 ppm y H-5 a 7.28 ppm) y **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** (H-3 a 6.71 ppm y H-5 a 7.19 ppm).

C. Estudio de la reactividad del fluoruro de ácido **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)** frente a **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**

Una vez obtenido el **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)**, éste se hizo reaccionar con la amina **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)** en presencia de DIEA en DMF.

Así, cuando se realizó la reacción de **F-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (40)**, **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36, 1 eq)** y DIEA (2.2 eq) en DMF a temperatura ambiente no se observó la formación de **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b)**. Además, cuando se incrementó la temperatura hasta 50 °C tampoco se produjo su formación.

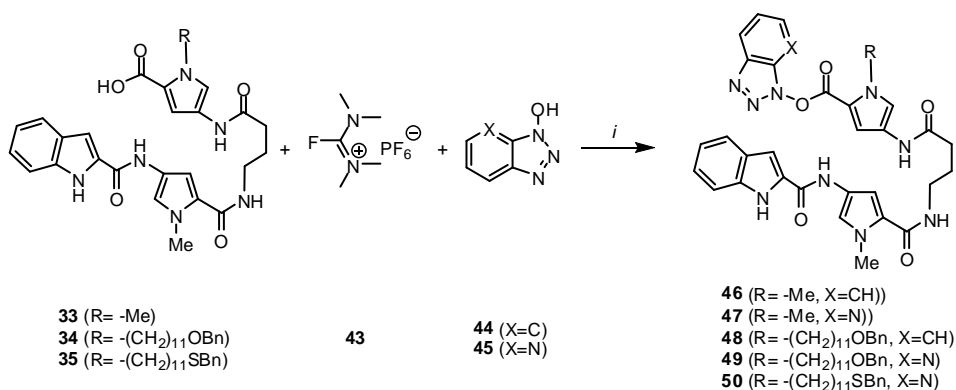
Finalmente, la duplicación del número de equivalentes de la amina **36** (2 eq) y de DIEA (4.4 eq), tampoco conllevó a la formación de la glico-oligoamida **52.b**.

D. Preparación de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)** a partir del fluoruro de ácido **40** generado *in situ*. Extensión a la preparación de **BtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (48)**, **AtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (49)** y **AtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (50)**.

El siguiente método de activación ensayado fue la preparación de los ésteres activados del HOBt y HOAt a partir de los fluoruros de ácido generados *in situ*.

La reacción de los ácidos **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)**, **HO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (34)**, **HO-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (35)**, con hexafluorofosfato de fluor-*N, N, N', N'*-tetrametilformamidinio (TFFH) (**43**), HOAt (**45**) y DIEA en DMF a temperatura ambiente condujo tras aislamiento y purificación cromatográfica a los ésteres activados **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)**, **AtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (49)**, **AtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (50)** respectivamente, con rendimientos del 95, 90 y 66%. (Esquema 1.2.6.4.)

Cuando se llevó a cabo la reacción empleando HOBt⁶⁹, en las condiciones anteriores se obtuvieron los ésteres activados **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** y **BtO-Py(B)-[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (48)** con rendimientos del 90%.



Clave: *i*.- DIEA, DMF

Esquema 1.2.6.4. Preparación de los ésteres activados **46-50**

⁶⁹ Inicialmente, el método había sido puesto a punto en el laboratorio empleando HOAt, pero durante el transcurso de esta Tesis Doctoral, éste dejó temporalmente de ser comercial, por ser un explosivo potencial. Por ello, fue necesario poner a punto la metodología empleando HOBt. Los rendimientos obtenidos empleando tanto HOAt como HOBt resultaron ser del mismo orden.

La asignación estructural de los compuestos **46-50** se realizó en base a sus datos espectroscópicos.⁷⁰

A modo de ejemplo se describen los desplazamientos químicos (δ) y las constantes de acoplamiento (J) de las señales del fragmento indicado en azul del compuesto **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** en DMSO- d_6 . (Figura 1.2.6.2.)

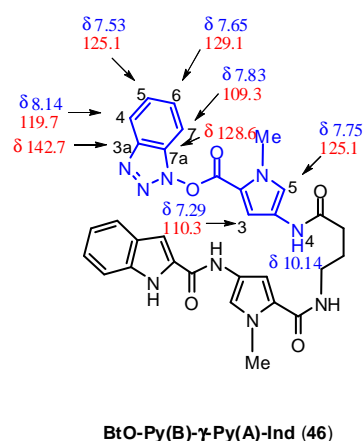


Figura 1.2.6.2. Resonancias de ^1H y ^{13}C de RMN del fragmento indicado en azul del compuesto **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** en DMSO- d_6

Las resonancias de ^1H y ^{13}C -RMN del pirrol B se asignaron en base a experimentos TOCSY, NOESY, HSQC y HMBC. El doblete a 7.75 ppm ($J = 1.7$ Hz) fue asignado al **CH-5** del Py(B) ya que se observa un pico de cruce en el experimento NOESY entre esta resonancia y el Me del Py(B) además de un pico de cruce en el HMBC de esta resonancia (**CH-5**) y el CO-4. La señal a 125.1 ppm

⁷⁰ Para ver sus datos espectroscópicos véase la Parte Experimental. Sección: **1.8**. Activación de los ácidos **HO-Py[R]- γ -Py-Ind (33** (R = -Me), **34** (R = -(CH₂)₁₁OBn), **35** (R = -(CH₂)₁₁SBn)

fue asignada a **CH-5** del Py(*B*), debido a un pico de cruce observado en el HSQC de esta resonancia (**CH-5**) y el **CH-5** del Py(*B*). El multiplete observado a 7.29 ppm fue asignada al **CH-3** del Py(*B*), en base a: un pico de cruce observado en el experimento TOCSY entre esta resonancia (**CH-3**) y el **CH-5** del Py(*B*) y un pico de cruce observado en el experimento NOESY entre esta resonancia (**CH-3**) y el NH-4. La señal observada a 110.3 ppm fue asignada a **CH-3** del Py(*B*), debido a un pico de cruce observado en el HSQC de esta resonancia (**CH-3**) y el **CH-3** del Py(*B*). El singlete observado a 10.14 fue asignado al NH-4 ya que se observa pico de cruce en el espectro NOESY con H-3 del Py(*B*).

Para la asignación del fragmento del BtO-, debido a la dificultad de discernir entre las resonancias del CH-4 y CH-7 del BtO-, se llevaron a cabo experimentos COSY, TOCSY, NOESY, HSQC y HMBC y además nos basamos en asignaciones descritas en la bibliografía.⁷¹ Las resonancias de ¹H y ¹³C-RMN a 8.14 ppm y 119.7 ppm fueron asignadas al CH-4 del BtO.⁷¹ A partir de esta resonancia, en base al experimento COSY, se pueden asignar de manera secuencial todas las resonancias de los protones del HOBT. Las resonancias de los carbonos se asignaron en base a los experimentos HSQC y HMBC. El triplete a 7.53 ppm ($J = 7.6$ Hz) y la señal a 125.1 ppm fueron asignadas al CH-5 del BtO. La señal a 7.65 ppm y la señal a 129.1 ppm fueron asignadas a C-6 del BtO. El doblete a 7.83 ppm ($J = 8.3$ Hz) y la señal a 109.3 ppm fueron asignadas al C-7 del BtO. La señal observada a 128.6 ppm fue asignada al C-7a del BtO. Y la señal observada a 142.7 ppm fue asignada al C-3a del BtO. (Figura 1.2.6.2.)

⁷¹ a) Fruchier, A.; Elguero, J.; Hegarty, A. F.; McCarthy, D. G. *Organic Magnetic Resonance*, **1980**, 13, 339-342. b) Mahmoud, K. A.; Long, Y.-T.; Schatte, G.; Kraatz, H.-B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 173-180.

A continuación, se realizó un estudio conformacional en DMSO- d_6 del **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** para determinar la presencia de su estructura en horquilla en disolución.

En la figura 1.2.6.3. se muestra la ampliación (6.7-8.3 ppm) del espectro NOESY-2D en DMSO- d_6 de **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** ($c = 10$ mg/0.06 ml) en la que se indica la asignación de todos los protones aromáticos. Se detectaron los nOes intra-hebra que se muestran en la figura 1.2.6.4. **Sin embargo, no se detectaron los nOes inter-hebra característicos de la estructura plegada (ni entre los pirroles A y B ni entre los del BtO y el indol) por lo que se propone que las conformaciones mayoritarias en disolución de DMSO- d_6 son lineales.**

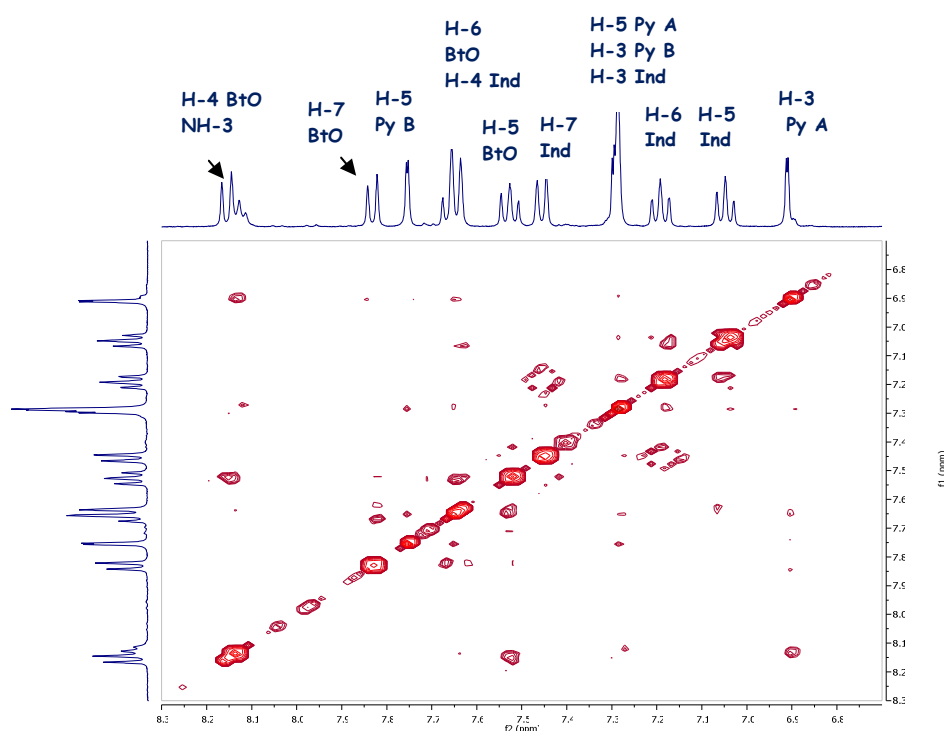


Figura 1.2.6.3. Ampliación del espectro NOESY de **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** ($c = 10$ mg/ 0.6 ml) en DMSO- d_6 entre 6.7 ppm-8.3 ppm

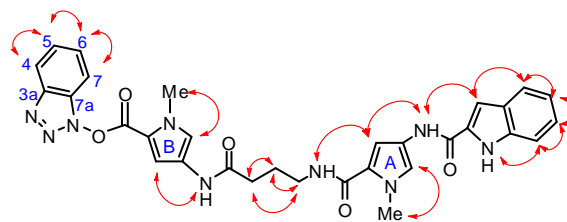
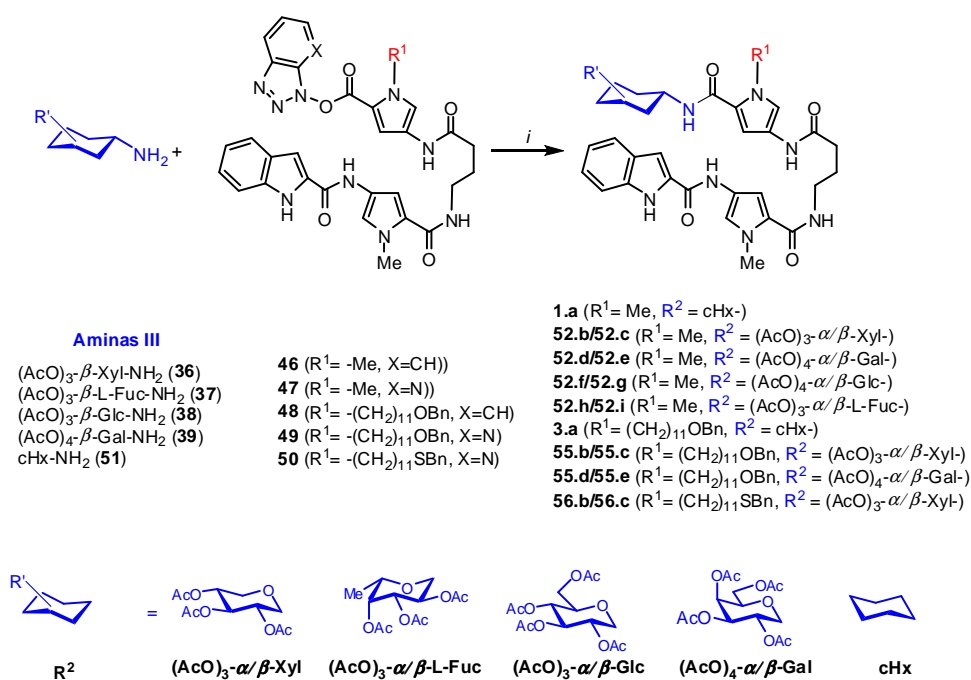


Figura 1.2.6.4. nOes observados en el espectros NOESY en DMSO- d_6 de **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)** ($c = 10 \text{ mg/0.6 ml}$)

- E. Estudio de la reactividad de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)** frente a **(AcO) $_3$ - β -Xyl-NH $_2$ (36)**. Extensión del procedimiento a los ácidos oligoamídicos activados **48-50** y a las aminas anoméricas **III**.

Una vez obtenidos los ésteres activados **46-50**, se hicieron reaccionar con las aminas **(AcO) $_3$ - β -Xyl-NH $_2$ (36)**, **(AcO) $_3$ - β -L-Fuc-NH $_2$ (37)**, **(AcO) $_4$ - β -Glc-NH $_2$ (38)**, **(AcO) $_4$ - β -Gal-NH $_2$ (39)** y **cHx-NH $_2$ (51)** en presencia de DIEA en DMF a temperatura ambiente para la obtención de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I. (Esquema 1.2.6.5)



Clave: *i*.- DIEA, DMF, t. a.

Esquema 1.2.6.5. Preparación de los compuestos **1.a**, **52.b-i**, **3.a**, **55.b-e** y **56.b-c**

En la tabla 1.2.6.1. se resumen las reacciones realizadas para la obtención de los compuestos **1.a**, **52.b-i**, **3.a**, **55.b-e** y **56.b-c**.

Tabla 1.2.6.1. Reacciones para la obtención de los compuestos **1.a**, **52.b-i**, **3.a**, **55.b-e** y **56.b-c**.^a

Amina III	Éster activado	Producto	α/β ^b	Rdto
51	47	cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)	-	95%
36	47	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)	1:1	95%
37	47	(AcO) ₃ - α/β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i)	1:3	75%
38	47	(AcO) ₄ - α/β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.f/52.g)	1:5	82%
39	46	(AcO) ₄ - α/β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.d/ 52.e)	1:5	70%
39	47	(AcO) ₄ - α/β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.d /52.e)	1:5	80%
51	48	cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (3.a)	-	70%
36	48	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.b/55.c)	1:1	65%
36	49	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.b/55.c)	1:1	60%
39	48	(AcO) ₄ - α/β -Gal Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.d/55.e)	1:5	55%
36	50	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ SBn]- γ -Py(A)-Ind (56.b/56.c)	1:1	54%

^a En todos los casos se emplean las mismas condiciones (DIEA, DMF, t.a.)^b La relación α/β fue estimada por RMN.

Cabe destacar que las aminas anoméricas de partida son de configuración β , y sin embargo, todos los derivados se obtienen como mezclas de anómeros α/β en diferentes proporciones, determinados por RMN. Así, durante la reacción de acoplamiento se produce anomerización.⁷²

A modo de ejemplo, se describe la asignación de los protones anoméricos de la mezcla α/β obtenida en el caso de las oligoamidas **52.b-e**.

⁷² Para ver ejemplos de reacciones donde también se produce la anomerización durante la reacción de acoplamiento entre la (AcO)₄- β -Glc-NH₂ (**38**) y el ácido 2-tiofenónico ver referencia 64.a.

a) En el caso de la xilosa, **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)**, se obtiene una mezcla α/β en proporciones 1/1. En el espectro de ¹H-RMN en DMSO-d₆ la señal observada a 5.06 ppm se asignó al protón H-1 del anómero β (**52.c**); la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 9.4$ Hz está de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. El doble doblete observado a 5.78 ppm se asignó al protón H-1 del anómero α (**52.b**); la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 4.8$ Hz está de acuerdo con una disposición cis entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace α en la posición anomérica, debido a que el H-2 se encuentra en posición axial. La proporción de ambos anómeros se determinó por integración de las señales de los protones de ambos anómeros en el espectro de ¹H-RMN del crudo de reacción. Tras aislamiento y purificación, una cantidad analítica del anómero β fue separable para su caracterización.

b) En el caso de fucosa, **(AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i)**, se obtiene una mezcla α/β en proporciones 1/3. En el espectro de ¹H-RMN en CDCl₃, el doble doblete observado a 6.10 ppm se asignó al protón H-1 del anómero α ; la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 5.6$ Hz está de acuerdo con una disposición cis entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico α en la posición anomérica, debido a que el H-2 se encuentra en posición axial. El protón H-1 del anómero β se observa a 5.05-5.35 ppm, solapado con otros 3 protones del carbohidrato. La proporción de ambos anómeros se determinó por integración de las señales de los protones de ambos anómeros en el espectro de ¹H-RMN del crudo de reacción. Tras aislamiento y purificación, una cantidad analítica del anómero β fue separable para su caracterización.

c) En el caso de glucosa, **(AcO)₄- α/β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.f/52.g)**, se obtiene mayoritariamente el anómero β ($\alpha/\beta = 1/5$). En el espectro de ¹H-RMN en

DMSO- d_6 de **(AcO) $_4$ - α/β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.f/52.g)** el doble doblete observado a 5.50 ppm se asignó al protón H-1 del anómero β (**52.g**); la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 9.3$ Hz está de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. El multiplete observado a 6.00 ppm se asignó al protón H-1 del anómero α . La proporción de ambos anómeros se determinó por integración de las señales de los protones de ambos anómeros en el espectro de ^1H -RMN del crudo de reacción. Tras aislamiento y purificación se obtuvo el anómero β , **(AcO) $_4$ - β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.g)** como un sólido blanco con un 68%.

d) En el caso de galactosa, **(AcO) $_4$ - α/β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.d/52.e)**, se obtiene mayoritariamente el anómero β ($\alpha/\beta = 1/5$). En el espectro de ^1H -RMN en DMSO- d_6 de **(AcO) $_4$ - α/β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.d/52.e)** la señal observada a 5.45 ppm se asignó al protón H-1 del anómero β (**52.e**); la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 9.1$ Hz está de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. El doble doblete observado a 6.00 ppm se asignó al protón H-1 del anómero α ; la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 4.8$ Hz está de acuerdo con una disposición cis entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace α en la posición anomérica, debido a que el H-2 se encuentra en posición axial. La proporción de ambos anómeros se determinó por integración los protones de ambos anómeros en el espectro de ^1H -RMN del crudo de reacción. Tras aislamiento y purificación se obtuvo el anómero β , **(AcO) $_4$ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.e)** como un sólido blanco con un 66%.

Tabla 1.2.6.2. Desplazamientos químicos (ppm) de las resonancias de ^1H y ^{13}C -RMN de la posición anomérica y de los NH-5 así como las constantes de acoplamiento ($^3J_{\text{H-1/NH-5}}$ y $^3J_{\text{H-1/H-2}}$) de las glico-oligoamidas tipo I acetiladas **1.a**, **52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.i**, **3.a**, **55.b**, **55.c**, **55.e** y **56.b/56.c**

Glico-oligoamida Tipo I	^1H -RMN			^{13}C -RMN	
	H-1 (ppm)	NH-5 (ppm)	$^3J_{\text{H-1/NH-5}}$ (Hz)	$^3J_{\text{H-1/H-2}}$ (Hz)	C-1 (ppm)
cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind^a (1.a)	3.65	8.08	-	-	47.4
(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind^a (52.c)	5.05	8.58	9.2	9.4	77.6
(AcO)₄-β-Gal Py(B)-γ-Py(A)-Ind^a (52.e)	5.45	8.74	9.5	9.1	77.5
(AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind^a (52.g)	5.50	8.66	9.5	9.3	77.7
(AcO)₃-β-L-Fuc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind^b (52.i)	5.05-5.35	-	-	-	78.7
cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind^c (3.a)	3.80	7.05	8.1	-	49.9
(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ- Py(A)-Ind^c (55.c)	5.40	7.63	8.7	10.3	80.5
(AcO)₃-α-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ- Py(A)-Ind^c (55.b)	5.92	8.03	9.4	4.0	80.5
(AcO)₄-β-Gal Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ- Py(A)-Ind^c (55.e)	5.50	7.76	10.4	7.8	80.0
(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ- Py(A)-Ind^d (56.b/56.c)	4.97 (H-1 β) 5.78 (H-1 α)	-	-	9.5 (β) 4.3 (α)	78.7 (C-1 β)

^a en DMSO-d₆; ^b en CDCl₃; ^c en acetona-d₆; ^d metanol-d₄

En la tabla 1.2.6.2. se muestran los desplazamientos químicos (ppm) de las resonancias de ^1H y ^{13}C -RMN de los protones anoméricos y de los NH-5^{73} así como las constantes de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/NH-5}}$ y $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ de las glico-oligoamidas tipo I acetiladas **1.a**, **52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.i**, **3.a**, **55.b**, **55.c**, **55.e** y **56.b/56.c** en DMSO-d_6^{74} , CDCl_3^{75} , acetona- d_6^{76} y metanol- $\text{d}_4^{77, 78}$.

La constante de acoplamiento entre el protón H-1 de la piranosa y el NH-5 , para las glico-oligoamidas tipo I acetiladas **52.c**, **e**, **g**, **i** y **55.b**, **c**, **e** se encuentran entre 8.15 y 10.4 Hz (tabla 1.2.6.2.).

Aunque la ecuación de Karplus no es capaz de discriminar entre conformaciones *syn* o *anti* del ángulo de torsión definido por H1-C1-N-H , los valores de la constante de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/NH-5}}$ entre 8.0-10.9 Hz generalmente en carbohidratos están en concordancia con una disposición *anti*.⁷⁹ Además, basándonos en otras glicosilamidas descritas en la literatura^{64a, 64f, 80} y en estudios conformacionales realizados en nuestro grupo de investigación¹⁸, de las glico-oligoamidas Tipo I totalmente desacetiladas se podría proponer una estructura tipo Z *anti* para las glico-oligoamidas Tipo I acetiladas **52.c**, **e**, **g**, **i** y **55.b**, **c**, **e**. (Figura 1.2.6.5.)

⁷³ Para ver la numeración de los NHs ver el apartado *Nomenclatura*.

⁷⁴ Para los compuestos **1.a**, **52.c**, **52.e**, **52.g**.

⁷⁵ Para el compuesto **52.i**

⁷⁶ Para los compuestos **3.a**, **55.b**, **55.c** y **55.e**

⁷⁷ Para los compuestos **56.a/56.b**

⁷⁸ Para ver todos los datos espectroscópicos véase la Parte Experimental. Sección **1.9**. Preparación de las oligoamidas **1.a**, **52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.i**, **3.a**, **55.b**, **55.c**, **55.e** y **56.b/56.c**

⁷⁹ a) Avalos, M.; Babiano, R.; Cintas, P.; Jiménez, J. L.; Palacios, J. C.; Fuentes, J. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1990**, 495-501. b) Avalos, M.; Babiano, R.; Durán, C. J.; Jiménez, J. L.; Palacios, J. C. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1992**, 2205-2215. c) Babiano, R.; Durán, J.; Plumet, J.; Román, E.; Sánchez, E.; Serrano, J. A.; Fuentes, J. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1989**, 1923-1926. d) Schamper, T. J. *Carbohydr. Res.* **1974**, 36, 233-237. e) Hirano, S.; Iwaki, H.; Kondo, Y. *Carbohydr. Res.* **1978**, 65, 307-310. f) Salinas, A. S.; Sproviero, J. F.; Deulofeu, V. *Carbohydr. Res.* **1987**, 170, 71-99.

⁸⁰ a) Avalos, M.; Babiano, R.; Carretero, M. J.; Cintas, P.; Higes, F. J.; Jiménez, J. L.; Palacios, J. C. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 615-628. b) Avalos, M.; Babiano, R.; Barneto, J. L.; Bravo, P. C.; Cintas, P.; Jiménez, J. L.; Palacios, J. C. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7275-7282.

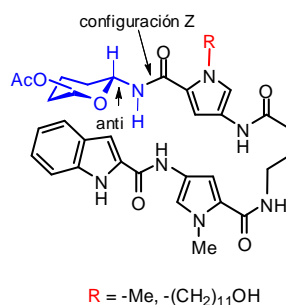


Figura 1.2.6.5. Glico-oligoamidas Tipo I acetiladas con estructura *Z anti*

La nomenclatura *Z anti* se refiere a la configuración y conformación del enlace amida. En la configuración *Z* de las amidas, los dos grupos de mayor prioridad, de acuerdo con las reglas de Cahn Ingold Prelog⁸¹, se encuentran en el mismo lado del enlace C-N, el cual posee un cierto carácter de doble enlace. La nomenclatura *anti* se refiere al ángulo de torsión definido por $\text{H1-C1-N-H} = 180 \pm 90^\circ$.^{64a, 64f, 80} (Figura 1.2.6.6.)

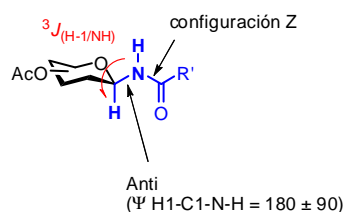


Figura 1.2.6.6. Definición de la estructura y nomenclatura del enlace *Z anti*.^{64a}

Como resumen, se han obtenido dos vectores generales con estructura de glico-oligoamidas Tipo I acetiladas (I, Esquema 1.1.2.10)

⁸¹ Cahn, R. S.; Ingold, C. K.; Prelog, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, 5, 385–415.

mediante una única estrategia sintética, que se ha definido como **Ruta A (ruta lineal): Azúcar-NH₂ (III) + HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (II):** (Esquema 1.2.1.)

- A. Glico-oligoamidas Tipo I acetiladas con estructura general de **vector A (-NH-Py(B)-γ-Py(A)-Ind)**, **1.a, 52.b/52.c, 52.e, 52.g, 52.h/52.i**, a partir del producto de partida **Cl₃CO-Py-NO₂ (11)^{15a}**, con rendimientos globales del 22 al 32%.
- B. Glico-oligoamidas Tipo I acetiladas con estructura general de **vector B (-NH-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind)**, compuestos **3.a, 55.b/55.c, 55.e**, los rendimientos globales de la **Ruta A** a partir del producto de partida **Cl₃CO-Py-NO₂ (11)^{15a}** son del 25 al 17%.

1.2.7. Reacciones de desprotección

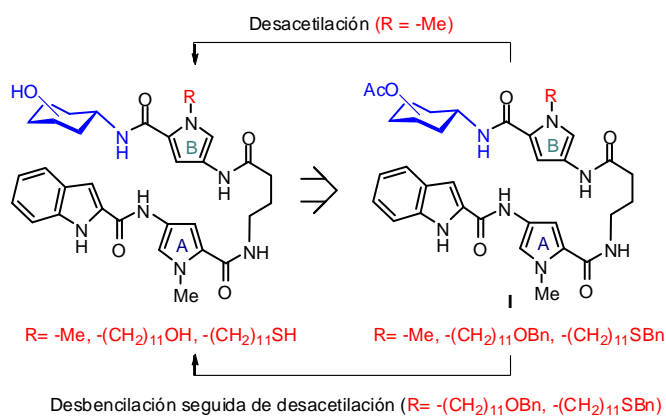
Una vez obtenidas las glico-oligoamidas Tipo I acetiladas, **52.b/52.c, 52.e, 52.g, 52.h/52.i, 55.b/55.c, 55.e y 56.b/56.c** (Esquema 1.1.2.10) fue necesario realizar varios métodos de desprotección para conseguir la obtención de las glico-oligoamidas Tipo I finales **1.b, 1.c, 1.e, 1.g, 1.i, 2.a, 2.c, 2.e, 3.c, 4.b y 4.c**, respectivamente. (Esquema 1.2.7)

Para ello:

- A. Se llevará a cabo la desprotección selectiva del grupo Bn de las glico-oligoamidas de fórmula general **(AcO)_n-Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁XBn]-γ-Py(A)-Ind** en presencia del carbohidrato protegido con acetatos. El desarrollo de ésta permitirá obtener los compuestos **(AcO)_n-Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁XH]-γ-Py(A)-Ind** que son los precursores de las **glico-oligoamidas Tipo II** (ver capítulo 2 de esta Tesis Doctoral).
- B. Se llevará a cabo la desprotección de los acetatos de las glico-oligoamidas de fórmula general **(AcO)_n-Azúcar-Py(B)-γ-Py(A)-Ind**. Esta metodología

permite obtener las glico-oligoamidas finales con **estructura general de vector A, Azúcar-Py(B)- γ -Py(A)-Ind.**

- C. Se llevará a cabo la desprotección de los acetatos de las glico-oligoamidas de fórmula general **(AcO)_n-Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind.** Así se obtendrán las glico-oligoamidas finales con **estructura general de vector B, Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind.**
- D. Por último, se llevará a cabo la desprotección selectiva de los acetatos de las glico-oligoamidas en presencia del grupo Bn, para obtener los compuestos **(HO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (3.c) y (HO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (4.c).**

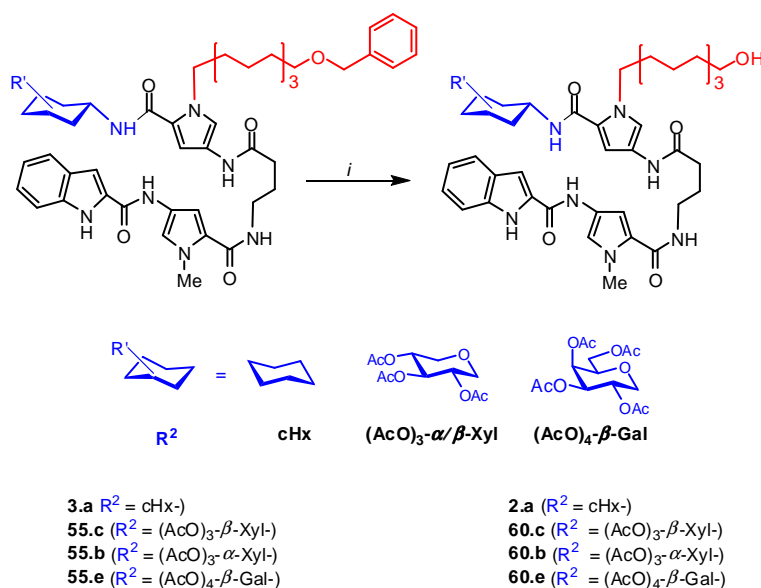


Esquema 1.2.7. Procesos de desprotección implicados en la preparación de **glico-oligoamidas Tipo I**

1.2.7.1. Reacciones de desbencilación

Se realizó la hidrogenólisis de los compuestos **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (3.a), (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.c),**

(AcO)₃- α -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.b) y (AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.e) a presión atmosférica en presencia de Pd/C como catalizador en metanol a temperatura ambiente. Tras filtración^{82, 83}, evaporación del disolvente a presión reducida y purificación cromatográfica se obtuvieron los compuestos cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a), (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.c), (AcO)₃- α -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (60.b) y (AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.e) como sólidos blancos con rendimientos del 90, 85, 65 y 70%, respectivamente. (Esquema 1.2.7.1.)



Clave: *i*-H₂, Pd/C (5%), MeOH

Esquema 1.2.7.1. Preparación de los compuestos **2.a**, **60.b**, **c**, **e**

⁸² Al filtrar sobre celita para eliminar el Pd/C, se observó desprotección parcial o total de los acetatos; esto puede explicarse por la formación de metóxido en el proceso de filtración. El problema se resolvió realizando una filtración rápida con papel de filtro de 110 mm de diámetro de poro.

⁸³ Ejemplo de desprotección de acetatos en carbohidratos empleando tamiz molecular 4Å en metanol: Kartha, K. P. R.; Mukhopadhyay B.; Field, R. A. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 729-732.

En los espectros de ^1H -RMN en acetona- d_6 de los compuestos **2.a**, **60.b**, **60.c**, **60.e** se observó un multiplete a 3.45 ppm, que se asignó al OH de la cadena.

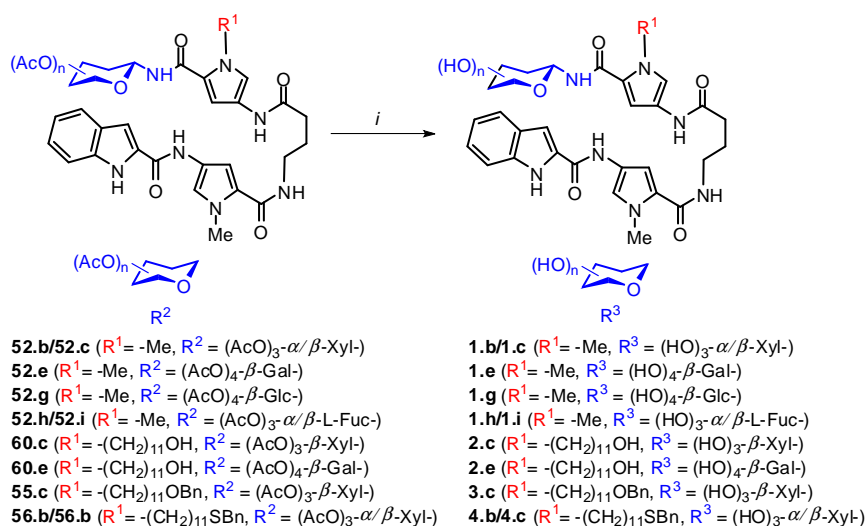
Para los compuestos $(\text{AcO})_3$ - α/β -Xyl-Py(B)-[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (**56.b/56.c**) todos los intentos de desbencilación⁸⁴ fueron fallidos. Así, la hidrogenólisis en condiciones análogas a las anteriores (empleando H₂ a presión atmosférica y Pd/C (5%) como catalizador) no funcionó, recuperándose el producto de partida. También se emplearon métodos de reducción: 1) NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/MeOH²⁵ ó 2) NiCl₂·6H₂O, NaBH₄, EtOH²⁴. En estos casos sólo pudo detectarse por espectrometría de masas las señales correspondientes al producto de partida y trazas del producto desbencilado. También, con el fin de obtener el derivado S-S, dímero de las glico-oligoamidas con estructura de vector B unidas por un puente disulfuro, se emplearon dos condiciones de desbencilación MeSiCl₃/Ph₂SO/TFA y TfOTMS/(CF₃SO₃Si(CH₃)₃)/CH₂Cl₂.⁸⁵ En ninguno de ambos casos se consiguió aislar el producto deseado.

1.2.7.2. Reacciones de desacetilación.

Las glico-oligoamidas tipo I acetiladas **52.b/52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.h/52.i**, **60.c**, **60.e**, **55.c** y **56.b/56.c**, se trataron con MeONa en metanol⁴⁷ (Esquema 1.2.7.2.1.). Tras evaporación del disolvente a presión reducida y purificación cromatográfica se obtuvieron los compuestos totalmente desacetilados, **Azúcar-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**, (**1.b**, **1.c**, **1.e**, **1.g**, **1.i**, **2.c**, **2.e**, **3.c**, **4.b** y **4.c**) como sólidos blancos, con rendimientos de entre el 54 y el 80%. (Tabla 1.2.7.2.1.)

⁸⁴ Se pretendía obtener el correspondiente tiol $(\text{AcO})_3$ - β -Xyl-Py(B)-[(CH₂)₁₁SH]- γ -Py(A)-Ind o bien el correspondiente disulfuro S-S [(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)-[(CH₂)₁₁S-]- γ -Py(A)-Ind]₂,

⁸⁵ Koide, T.; Otake, A.; Suzuki, H.; Fujii, N. *Synlett*, **1991**, 345-346.



Clave: *i*.- MeONa, MeOH

Esquema 1.2.7.2.1. Preparación de los compuestos **1.b, c, e, g, h, i; 2.c, 2.e, 3.c** y **4.b/4.c**

Es importante destacar que en los casos donde las reacciones de desacetilación se realizaron con mezclas de anómeros (α/β) se mantiene la proporción de anómeros α/β en los compuestos desacetilados. Esto nos indica que no se produce anomerización durante esta etapa de desacetilación.

Además, la separación cromatográfica en $CH_2Cl_2/MeOH$ (5:1) de los anómeros (α/β) resulta más sencilla en este paso de reacción, es decir, en aquellos en el que el resto azúcar está completamente desacetilado.

Tabla 1.2.7.2.1. Preparación de los compuestos 1.b, c, e, g, h, i; 2.c, 2.e, 3.c y 4.b/4.c

Glico-oligoamidas tipo I acetiladas	Glico-oligoamidas tipo I	Rdto. (%)
52.b/52.c ($\alpha/\beta = 1/1$)	(HO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.b/1.c) ($\alpha/\beta = 1/1$) ^a	80%
52.e	(HO) ₄ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.e)	65%
52.g	(HO) ₄ - β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.g)	65%
52.h/52.i ($\alpha/\beta = 1/3$)	(HO) ₃ - α/β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.h/1.i) ($\alpha/\beta = 1/3$) ^a	70%
60.c	(HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)-[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)	80%
60.e	(HO) ₄ - β -Gal-Py(B)-[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py(A)-Ind (2.e)	60%
55.c	(HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)-[(CH ₂) ₁₁ OBn]- γ -Py(A)-Ind (3.c)	80%
56.b/56.c ($\alpha/\beta = 1/1$)	(HO) ₃ - α -Xyl-Py(B)-[(CH ₂) ₁₁ SBn]- γ -Py(A)-Ind (4.b/4.c) ($\alpha/\beta = 1/1$) ^a	54%

^aEsta proporción se determinó por ¹H-RMN en el espectro del crudo de reacción.

Tabla 1.2.7.2.2. Desplazamientos químicos (ppm) correspondientes al protón (H-1) y carbono (C-1) anomérico así como los NH-5 y la constante de acoplamiento ($^3J_{\text{H-1/NH-5}}$) de las glico-oligoamidas tipo I **1.b**, **c**, **e**, **g**, **i** en DMSO- d_6 , de **2.c**, **2.e** y **3.c** en acetona- d_6 y de **4.c** en metanol- d_4 .

Glico-oligoamida Tipo I	^1H -RMN			^{13}C -RMN
	H-1 (ppm)	NH-5 (ppm)	$^3J_{\text{H-1/NH-5}}$ (Hz)	C-1 (ppm)
(HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind ^a (1.c)	4.77	8.35	8.8	80.5
(HO) $_3$ - α -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind ^a (1.b)	5.36	7.70	8.8	75.8
(HO) $_4$ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind ^a (1.e)	4.48	8.36	8.8	80.1
(HO) $_4$ - β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind ^a (1.g)	4.51	8.36	8.8	79.6
(HO) $_3$ - β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind ^a (1.i)	4.80	8.29	8.7	80.0
(HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OH]- γ -Py(A)-Ind ^b (2.c)	5.07	7.74	8.2	79.4
(HO) $_4$ - β -Gal-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OH]- γ -Py(A)-Ind ^b (2.e)	5.06	7.62	-	79.2
(HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OBn]- γ -Py(A)-Ind ^b (3.c)	5.07	7.72	9.1	79.4
(HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ SBn]- γ -Py(A)-Ind ^c (4.c)	4.97	-	-	81.7

^a en DMSO- d_6 ; ^b en acetona- d_6 ; ^c en metanol- d_4

Los espectros de ^1H y ^{13}C -RMN de las glico-oligoamidas tipo I **1.b**, **c**, **e**, **g**, **i** en DMSO- d_6 , de **2.c**, **2.e** y **3.c** en acetona- d_6 y de **4.c** en metanol- d_4 se asignaron en base a experimentos COSY, HSQC y HMBC.⁸⁶ En la tabla 1.2.7.2.2. se muestran las resonancias correspondientes al protón (H-1) y carbono (C-1) anomérico así como los NH-5 y la constante de acoplamiento ($^3J_{\text{H-1/NH-5}}$). La constante de acoplamiento entre el protón H-1 de la glicopiranososa y el NH-5, para las glico-oligoamidas tipo I **1.b**, **c**, **e**, **g**, **i** (en DMSO- d_6) y **2.c**, **2.e** y **3.c** (en acetona- d_6) tiene un valor entre 8.2 y 9.1 Hz. (Tabla 1.2.7.2.2.)

En general, la conformación de las glico-oligoamidas **1.a**, **b**, **c**, **e**, **g**, **i** en disolventes orgánicos no ha sido estudiada en profundidad en nuestro grupo de investigación, ya que nuestro interés se ha centrado en estudios conformacionales en medio acuoso.¹⁸ Mediante nOes y $^3J_{\text{H-1/NH-5}}$ se pudo concluir que en las glico-oligoamidas tipo I, de fórmula general **Azúcar-Py(B)- γ -Py(A)-Ind** (**1.b**, **c**, **e**, **g**, **i**), el enlace amidoglicosídico se encuentra en una conformación preferente *Z-anti*, al igual que en otras glicosilamidas descritas en la bibliografía.^{64.a, 64f, 80}

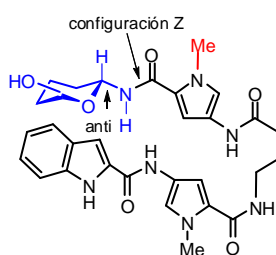


Figura 1.2.7.2.1. Glico-oligoamidas Tipo I con estructura *Z anti*

⁸⁶ Para ver datos espectroscópicos ver parte experimental. Sección: 1.10.2. Reacciones de desacetilación.

Además, como ya se ha mencionado anteriormente, estas glico-oligoamidas, con estructura general de **vector A**⁸⁷, han mostrado tener un porcentaje de conformación en horquilla en disolución acuosa tanto por RMN^{18, 88} como por fluorescencia.⁸⁹

A continuación pasaremos a describir un estudio más detallado de la conformación de **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)**. Estos estudios están encaminados a aportar información sobre la conformación de la estructura general a la que hemos denominado **vector B**⁸⁷ (**-NH-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind**).

1.2.8. Estudio conformacional de **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)**

Este compuesto fue seleccionado como representante de las moléculas tipo vector B para ser estudiada su conformación no solo en disolventes orgánicos sino también en medio acuoso. Desafortunadamente, **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** no resultó ser soluble ni en D₂O, ni en D₂O con un 7% de DMSO-d₆ por lo que se ha realizado el estudio conformacional de **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** en DMSO-d₆ y en D₂O (tampón fosfato, empleando el surfactante docecil sulfato sódico deuterado (SDS-d₂₅)⁹⁰).

Se realizó la asignación completa de la molécula en DMSO-d₆, haciendo uso de experimentos COSY, 2D-TOCSY (60 ms), NOESY (400ms), ROESY

⁸⁷ Para ver la definición de vector A y vector B véase apartado *Nomenclatura*.

⁸⁸ Souard, F.; Muñoz, E. M.; Peñalver, P.; Badía, C.; del Villar-Guerra, R.; Asensio, J. L.; Jiménez-Barbero, J.; Vicent, C. *Chem. Eur. J.*; **2008**, *14*, 2435-2442.

⁸⁹ Peñalver, P.; Samadi, A.; Bosch, P.; Hunter, C. A.; Vicent, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2220-2231.

⁹⁰ El surfactante se añadió para aumentar la solubilidad de dicho compuesto en medio acuoso: Holland, P. M.; Rubingh, D. N. *Mixed Surfactant Systems*, ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, **1992**.

(400ms), HSQC y HMBC. En la figura 1.2.8.1. se muestran las resonancias de ^1H - y ^{13}C -RMN de $\beta\text{-Xyl-Py(B)}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (2.c)}$ en DMSO-d_6 .

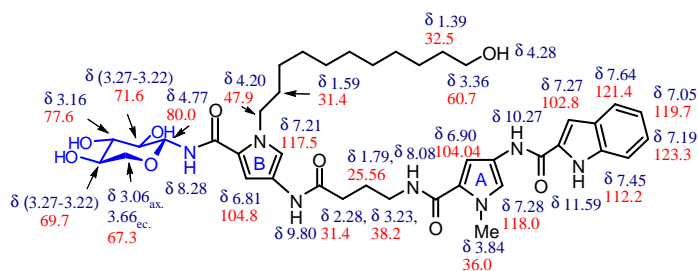


Figura 1.2.8.1. Resonancias de ^1H y ^{13}C de RMN de $\beta\text{-Xyl-Py(B)}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (2.c)}$ en DMSO-d_6

Los espectros 2D-NOESY y 2D-ROESY han permitido obtener información sobre la conformación de la glico-oligoamida $\beta\text{-Xyl-Py(B)}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (2.c)}$ en DMSO-d_6 .

A. Conformación del carbohidrato

Respecto de la conformación de la glicopiranososa (xilosa) la existencia de nOes entre H-1/H-5_{ax.}, H-1/H-3 y H-3/H-5_{ax.}, indican que la conformación del anillo de piranososa en $^4\text{C}_1$. (Figura 1.2.8.2.)

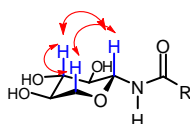


Figura 1.2.8.2. nOes entre H-1/H-5_{ax.}, H-1/H-3 y H-3/H-5_{ax.}, que indican que la conformación del anillo de piranososa en $^4\text{C}_1$

B. Configuración del centro anomérico

En el espectro de ^1H -RMN en DMSO-d_6 la señal observada a 4.77 ppm se asignó al protón H-1; la constante de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 9.4 \text{ Hz}$ está de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. (Figura 1.2.8.3.)

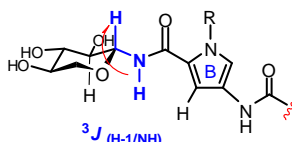


Figura 1.2.8.3. Configuración del centro anomérico

C. Configuración del enlace amida

La existencia de un nOe entre el NH-5 y CH-3 del Py(B) indica una configuración Z del enlace amida, R-NH-CO-R'. (Figura 1.2.8.4.)

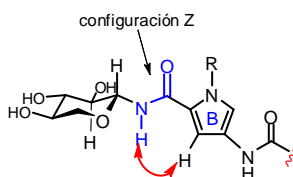


Figura 1.2.8.4. Configuración Z del enlace amida

D. Conformación relativa entre el carbohidrato y la amida

La conformación del enlace amido-glicosídico de la glicosil-amida $\beta\text{-Xyl-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OH]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (2.c)}$ se ha podido estudiar en DMSO-d_6 en base a la $^3J_{\text{H1/NH-5}}$ y a los nOes observados. La constante de acoplamiento entre el

protón H-1 de la piranosa y el NH-5 es 8.77 Hz; esta constante de acoplamiento está en concordancia con una estructura preferente *anti*. Además, la existencia de un nOe entre el NH-5 y el H-2 del carbohidrato apoya claramente que la conformación mayoritaria es *anti*. (Figura 1.2.8.5.)

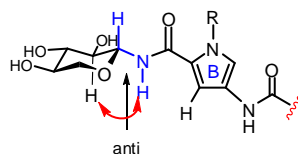


Figura 1.2.8.5. Estructura *Z anti* para el enlace amido-glicosídico de **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** en DMSO-d₆

Además, en el espectro 2D-ROESY en DMSO-d₆ de **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** ($c = 2.8 \cdot 10^{-3} \text{M}$) se observan los nOes intra hebra de la glico-oligoamida. (Figura 1.2.8.6.) En ningún caso se observaron los nOes-inter hebra⁹¹ característicos de la conformación en horquilla.

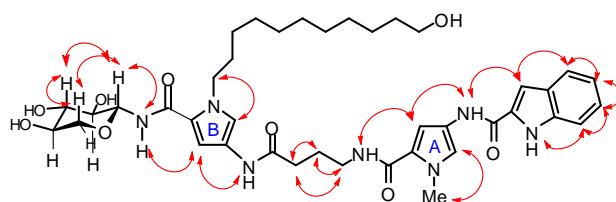


Figura 1.2.8.6. nOes observados en el espectros ROESY en DMSO-d₆ de **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)**

⁹¹ El plegamiento vendría definido por la existencia de señales nOe entre las resonancias del carbohidrato/indol y/o entre las correspondientes a los protones de al pirrol A/pirrol B. Por ejemplo entre el Me del Py(A) y el CH-5 del Py(B) y viceversa, entre el Me del Py(B) y el CH-5 del Py(A).

Debido a la ausencia de los nOes inter-hebra se podría proponer que las conformaciones mayoritarias de β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c) son lineales en este disolvente (DMSO-d₆).

La conformación de β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c) se ha estudiado también en D₂O (tampón fosfato, docecil sulfato sódico deuterado (SDS-d₂₅)). El surfactante se añadió para aumentar la solubilidad de dicho compuesto en medio acuoso.⁹⁰

Se preparó una muestra de β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c) ($c = 1.28 \cdot 10^{-3}$ M) y SDS-d₂₅ en una relación 1/70 en 0.5 ml de D₂O, con objeto de alcanzar el rango de concentración micelar crítica. Para la preparación de la muestra se disolvió el SDS (14 mg) en 0.5 ml de D₂O (tampón fosfato) y posteriormente se disolvió el compuesto con esta disolución, consiguiendo una concentración del mismo de $1.28 \cdot 10^{-3}$ M.

Se realizó la asignación del espectro de ¹H-RMN de la glico-oligoamida en D₂O (con SDS-d₂₅), haciendo uso de experimentos TOCSY (40 y 70 ms) y NOESY (300 ms y 400 ms). La asignación de los protones de los pirroles A y B, se llevó a cabo con los espectros 2D-TOCSY (70 ms) y NOESY (300 ms). La resonancia observada a 7.26 ppm se asignó al CH-5 del Py(B) en base a un nOe entre ésta y el metileno α de la cadena alquílica. A partir del CH-5 del Py(B) se asignó el CH-3 del Py(B) (a 6.93 ppm) en base a un pico de cruce de estas resonancias en el espectro TOCSY. La resonancia a 7.40 ppm se asignó al CH-5 del Py(A) en base a un nOe entre ésta y el metilo del Py(A). A partir del CH-5 del Py(A) se asignó el CH-3 del Py(A) (a 7.00 ppm) en base a un pico de cruce de estas resonancias en el espectro TOCSY. La asignación de los protones del indol se llevó a cabo de manera secuencial haciendo uso del espectro NOESY; se observan nOes entre el CH-3 (7.32 ppm) y el CH-4 (7.72 ppm); entre el CH-4 (7.72 ppm) y el CH-5 (7.17 ppm); entre el CH-5 (7.17 ppm) y el CH-6 (7.36 ppm) y entre el CH-6 (7.36 ppm) y el CH-7 (7.63 ppm). (Figura 1.2.8.7.)

Respecto al carbohidrato (β -Xyl), el único protón que se pudo asignar inequívocamente es el H-1 ya que existe un gran solapamiento entre las resonancias de los demás protones.

En la figura 1.2.8.7. se muestran las resonancias de ^1H -RMN del fragmento oligoamídico de β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c) en D₂O (tampón fosfato/SDS-d₂₅).

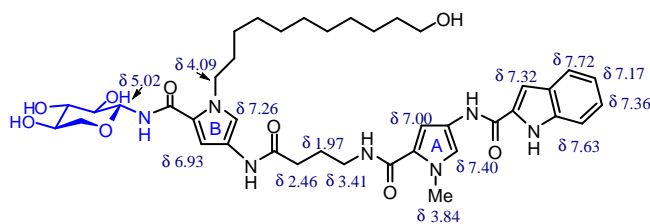


Figura 1.2.8.7. Resonancias de ^1H -RMN del fragmento oligoamídico de β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c) en DMSO-d₆ en D₂O (tampón fosfato/SDS-d₂₅)

En el espectro 2D-NOESY en D₂O de β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c) ($c = 1.28 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) (tampón fosfato/SDS-d₂₅) se detectaron los nOes intra-hebra que se muestran en la figura 1.2.8.8. Sin embargo, no se detectaron los nOes inter-hebra característicos de la estructura plegada (ni entre los pirroles A y B ni entre la xilosa y el indol) por lo que podría proponerse que las conformaciones mayoritarias son lineales.

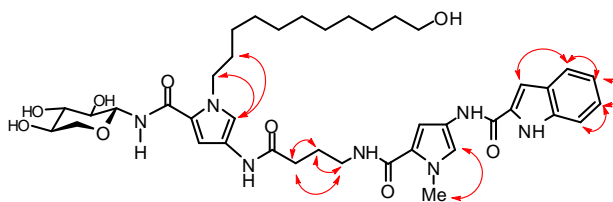
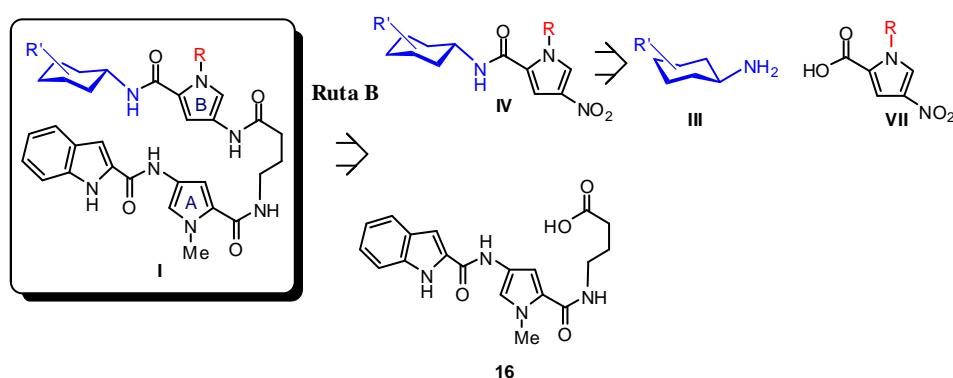


Figura 1.2.8.8. nOes observados en el espectro NOESY en D₂O de ***β*-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** ($c = 1.28 \cdot 10^{-3} \text{M}$) (tampón fosfato/SDS-d₂₅)

1.3. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO I POR LA RUTA B (Azúcar-Py(B)[R]-NO₂ (IV) + HO-γ-Py(A)-Ind (16) (RUTA CONVERGENTE) (Esquema 1.1.2.11.)

Las **glico-oligoamidas tipo I** alternativamente también se pueden sintetizar por la **Ruta B** siguiendo el esquema retrosintético que se muestra en el esquema 1.3.1.



Esquema 1.3.1. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas tipo I** por la **Ruta B**. **R** = -Me, -(CH₂)₁₁OH, -(CH₂)₁₁OBn; **aminas de fórmula general III**: cHx-NH₂ (51), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36), (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (37), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (38), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39).

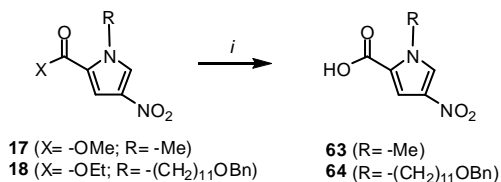
Las **glico-oligoamidas Tipo I** se prepararán a partir de los glico-nitropirroles **IV** y el ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** mediante una secuencia de activación del ácido **16**, reducción del grupo nitro a amina de los glico-nitropirroles **IV** correspondientes y acoplamiento de ambos para formar el enlace amida. (Esquema 1.3.1.)

Los glico-nitropirroles **IV** se prepararán a partir de los diferentes aminoazúcares convenientemente protegidos (o la cHx-NH_2 (**51**)) (aminas anoméricas **III**) y los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII**, mediante una secuencia de dos pasos: activación del ácido y acoplamiento con las aminas correspondientes en medio básico. (Esquema 1.3.1.)

El ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** es común en las dos rutas (**Ruta A** y **Ruta B**) por lo que se ha descrito su preparación en la **Ruta A**. (Ver sección: **1.2.2. Preparación del ácido HO- γ -Py(A)-Ind (16)**)

1.3.1. Preparación de los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII** (Esquema 1.3.1.)

Los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII** se prepararon mediante la hidrólisis de los ésteres de los nitropirroles correspondientes **MeO-Py(B)-NO₂ (17)** y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (18)** con $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ en una mezcla THF/H₂O. Tras aislamiento y purificación se obtuvieron los ácidos **HO-Py(B)-NO₂ (63)** y **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)** respectivamente con rendimientos del 95% como sólidos blancos. (Esquema 1.3.1.1.)



Clave: *i.*- $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, THF/H₂O

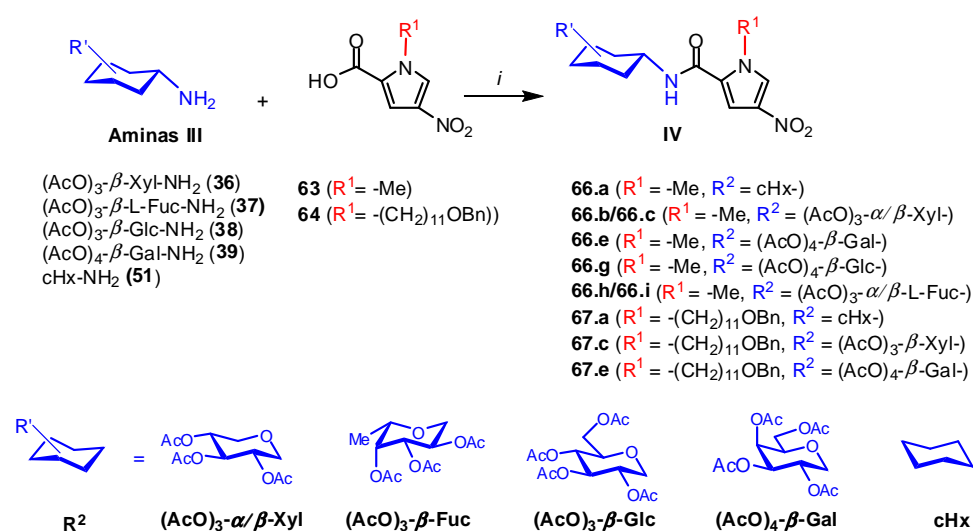
Esquema 1.3.1.1. Hidrólisis de los ésteres **17** y **18** para la obtención de los ácidos **63** y **64**

1.3.2. Preparación de los glico-nitropirroles IV (Esquema 1.3.1.)

Los glico-nitropirroles IV se pudieron preparar mediante: a) activación *in situ* o b) activación previa de los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles VII.

a) Activación *in situ* de los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles VII.

Los glico-nitropirroles IV (**66.a**, **66.b/66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i**, **67.a**, **67.c** y **67.e**) se prepararon mediante reacción de acoplamiento de las aminas III (los aminoazúcares **36-39**⁹² o la cHx-NH₂) con los ácidos **63** y **64** (activados previamente con HOBt/DIPC) empleando DMF como disolvente. (Esquema 1.3.2.1.)



Clave: i.- HOBt/DIPC/DMF

Esquema 1.3.2.1. Preparación de los compuestos **66.a-c**, **e**, **g**, **h**, **i** y **67.a**, **c**, **e**

⁹² Los aminoazúcares **36-39** se prepararon siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 1, sección: **1.2.5**. Preparación de los equivalentes sintéticos de las aminas III.

El ácido **HO-Py(B)-NO₂ (63)** se activó empleando HOBt/DIPC en DMF durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se añadieron las aminas correspondientes **(AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)**, **(AcO)₃-β-Fuc-NH₂ (37)**, **(AcO)₄-β-Glc-NH₂ (38)**, **(AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39)** y **cHx-NH₂ (51)** en DMF. Después de agitar la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, sucesivos lavados y tras purificación cromatográfica, se obtuvieron los compuestos **(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-NO₂ (66.b/66.c)**, **(AcO)₃-α/β-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i)**, **(AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NO₂ (66.g)**, **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NO₂ (66.e)** y **cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)** como sólidos blancos respectivamente, con rendimientos comprendidos entre el 70% y el 90%. (ver tabla 1.3.2.1. y Esquema 1.3.2.1.)

Cabe destacar que durante la reacción de acoplamiento se produce anomerización obteniéndose mezclas de anómeros α/β en diferentes proporciones.⁹³

En el caso del derivado de xilosa **66.b/66.c**, se obtuvo una mezcla $\alpha/\beta = 1/1.8$ ⁹⁴. En el espectro de ¹H-RMN en CDCl₃, las señales observadas a 5.69 y 4.87 ppm se asignaron a los protones H-1 y H-2 del anómero α (**66.b**), la constante de acoplamiento ³J_{H-1/H-2} = 2.4 Hz está de acuerdo con una disposición cis entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico α en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. Las señales observadas a 5.21 y 5.02 ppm se asignaron a los protones H-1 y H-2 del anómero β (**66.c**); en este caso, la constante de acoplamiento ³J_{H-1/H-2} = 9.2 Hz está de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica. La proporción de ambos anómeros se determinó por integración de los protones H-1 de ambos anómeros en el espectro de ¹H-RMN.

⁹³ Para ver ejemplos de reacciones donde también se produce la anomerización durante la reacción de acoplamiento entre la **(AcO)₄-β-Glc-NH₂ (38)** y el 2-ácido carboxílico tiofeno ver referencia 64.a.

⁹⁴ Una cantidad analítica del anómero β se obtuvo por cromatografía en gel de sílice para su caracterización.

En el caso del derivado de fucosa **66h/66.i**, se obtuvo una mezcla $\alpha/\beta = 1/3$ ⁹⁵. En el espectro de ¹H-RMN en CDCl₃, la señal observada a 6.01 ppm se asignó al protón H-1 del anómero α , la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 5.2$ Hz está de acuerdo con una disposición cis entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico α en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. El protón H-1 del anómero β aparece solapado con otros protones del azúcar a 5.15-5.44 ppm. La proporción de ambos anómeros se determinó por integración de los protones correspondientes al metilo de un grupo acetato de cada anómero.

En el caso de los derivados de galactosa, **66.e**, y glucosa, **66.g**, se obtuvo solamente β . En ambos casos, las constantes de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2}$ (8.9 y 9.2 Hz respectivamente) están de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica, ya que H-2 es axial en ambos casos.

Por otra parte, la reacción del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)** activado con HOBt/DIPC y los correspondientes aminoazúcares (**(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)**, **(AcO)₄- β -Gal-NH₂ (39)** o **cHx-NH₂ (51)** en DMF a temperatura ambiente, condujo tras aislamiento y purificación a los compuestos **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.b/67.c)**, **(AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.e)** y **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.a)** como aceites con rendimientos del 63, 50 y 80% respectivamente. (Esquema 1.3.2.1 y Tabla 1.3.2.1.)

Al igual que para la obtención de **66.b/66.c** y **66.h/66.i** durante la reacción de acoplamiento en el caso del derivado de xilosa, **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.b/67.c)**, se produce anomerización obteniéndose una mezcla de anómeros $\alpha/\beta = 1/1.5$. En el espectro de ¹H-RMN en CDCl₃, las señales observadas a 5.69 y 4.87 ppm se asignaron a los protones H-1 y H-2 del anómero α (**67.b**), la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 2.5$ Hz está de acuerdo

⁹⁵ No fue posible la separación de los dos anómeros por cromatografía en gel de sílice.

con una disposición cis entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico α en la posición anomérica, ya que H-2 es axial. Las señales observadas a 5.23 y 5.05 ppm se asignaron a los protones H-1 y H-2 del anómero β (**66.c**); en este caso, la constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2} = 9.2$ Hz está de acuerdo con una disposición trans diaxial entre H-1 y H-2, lo que corrobora el enlace amídico β en la posición anomérica. La proporción de ambos anómeros se determinó por integración de los protones H-1 de ambos anómeros en el espectro de ^1H -RMN. Se aisló el anómero β por cromatografía en columna.

En el caso del derivado de galactosa **67.e** se obtuvo sólo el anómero β . El multiplete observado a 5.22-5.30 se asignó al protón H-1.

En la tabla 1.3.2.1. se muestran los rendimientos y las proporciones α/β obtenidas para la preparación de los glico-nitropirroles **IV** por activación *in situ* de los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII**.

Tabla 1.3.2.1. Preparación de los compuestos **66.a**, **66.b/66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i** y **67.a**, **67.c**, **67.e**

Amina III	Ácido	Producto	α/β ^b	Rdto ^a
51	63	cHx-Py(B)-NO ₂ (66.a)	-	90%
36	63	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)-NO ₂ (66.b/66.c)	1/1.8	70%
37	63	(AcO) ₃ - α/β -L-Fuc-Py(B)-NO ₂ (66.h/66.i)	1/3	69%
38	63	(AcO) ₄ - β -Glc-Py(B)-NO ₂ (66.g)	0/1	89%
39	63	(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)-NO ₂ (66.e)	0/1	87%
51	64	cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NO ₂ (67.a)	-	80%
36	64	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NO ₂ (67.b/67.c)	1/1.5	63%
39	64	(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NO ₂ (67.e)	0/1	50%

^aTras purificación cromatográfica. En el caso en el que haya mezcla α/β el rendimiento es el correspondiente a la mezcla.

^bEsta proporción se determinó por ¹H-RMN en el espectro del crudo de reacción.

En la tabla 1.3.2.2. se muestran los desplazamientos químicos (δ) de las resonancias correspondientes al protón (H-1), al carbono (C-1) y al NH-1⁹⁶ así como las constantes de acoplamiento ³J_{H-1/NH-1} y ³J_{H-1/H-2} de los glico-nitropirroles **66.a**, **66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i** y **67.a**, **67.c**, **67.e** en DMSO-d₆⁹⁷ y CDCl₃.⁹⁸

⁹⁶ Para ver la numeración de los NHs ver el apartado *Nomenclatura*.

⁹⁷ Para el compuesto **66.a**.

⁹⁸ Para los compuestos **66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i** y **67.a**, **67.c**, **67.e**

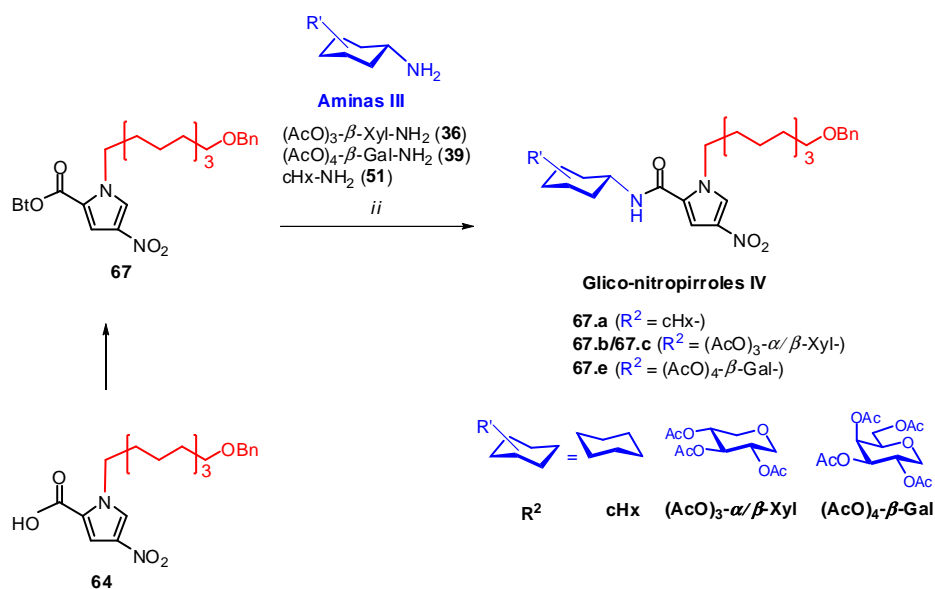
Tabla 1.3.2.2. Desplazamientos (δ) de las resonancias correspondientes al protón (H-1), al carbono (C-1) y al NH-1 así como las constantes de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ y $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ de los glico-nitropirroles **66.a**, **66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i** y **67.a**, **67.c**, **67.e** en DMSO- d_6 y CDCl_3

Glico-nitropirroles IV	^1H -RMN			^{13}C -RMN	
	H-1 (ppm)	NH-1 (ppm)	$^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ (Hz)	$^3J_{\text{H-1/H-2}}$ (Hz)	C-1 (ppm)
cHx-Py(B)-NO₂^a (66.a)	3.67	8.15	7.9	-	47.8
(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)-NO₂^b (66.c)	5.22	7.20	8.6	9.2	78.5
(AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NO₂^b (66.e)	5.50	9.21	9.5	8.9	77.3
(AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NO₂^b (66.g)	5.40	9.14	9.3	9.5	77.0
(AcO)₃-$\alpha\beta$-L-Fuc-Py(B)-NO₂^b (66.h/66.i)	6.01 (α)	6.89 (α)	7.8 (α)	5.2 (α)	78.5 (β)
	5.15-5.44 (β)	6.93 (β)	8.2 (β)		
cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂^b (67.a)	3.86	5.85	8.1	-	48.9
(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂^b (67.c)	5.23	7.13	9.0	9.2	78.9
(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂^b (67.e)	5.26	6.89	8.8	-	78.8

^a en DMSO- d_6 ; ^b En CDCl_3

b) Activación previa de los ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII**

Los glico-nitropirroles **IV**, **67.a**, **c** y **e**, se prepararon también mediante reacción de acoplamiento entre las aminas **III** (aminoazúcares **36** y **39**⁹⁹ o la cHx-NH₂ (**51**)) y el ácido activado **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (**67**). (Esquema 1.3.2.2.)**



Clave: *i.*- HOBt/DIPC/DMF; *ii.*- DIEA, DMF

Esquema 1.3.2.2. Preparación de los compuestos **67.a**, **67.b/67.c** y **67.e**.

Se realizó una activación previa del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (**64**) con HOBt y DIPC en DMF a temperatura ambiente. Tras aislamiento y**

⁹⁹ Los aminoazúcares **36-39** se prepararon siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 1, sección: **1.2.5**. Preparación de los equivalentes sintéticos de las aminas **III**.

purificación se obtuvo el éster **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67**) como un sólido blanco con un rendimiento del 76%.

Posteriormente, la reacción del éster **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67**), con las correspondientes aminas (**(AcO)₃-β-Xyl-NH₂** (**36**), (**(AcO)₄-β-Gal-NH₂** (**39**) y **cHx-NH₂** (**51**)) empleando como base DIEA en DMF a temperatura ambiente condujo tras aislamiento y purificación a los compuestos (**(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67.b/67.c**), (**(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67.e**) y **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67.a**) como aceites con rendimientos del 65, 50 y 80% respectivamente. (Esquema 1.3.2.2.)

Durante la reacción de acoplamiento entre **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67**) y (**(AcO)₃-β-Xyl-NH₂** (**36**)) se produce anomerización, obteniéndose una mezcla de anómeros α/β (1/1.5).

El rendimiento global de las dos etapas, cuando se realiza la activación previa del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**64**) seguida del acoplamiento con las aminas correspondientes, (**(AcO)₃-β-Xyl-NH₂** (**36**), (**(AcO)₄-β-Gal-NH₂** (**39**) y **cHx-NH₂** (**51**)), es del 50% para los compuestos (**(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67.b/67.c**), del 38% para el compuesto (**(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67.e**) y del 60% para el compuesto **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**67.a**).

En la tabla 1.3.2.3 se comparan los rendimientos obtenidos para la preparación de los glico-nitropirroles **IV**, **67.a**, **67.b/67.c**, **67.e**, bien por activación previa del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂** (**64**) o bien por activación *in situ*, así como la relación de anómeros obtenidos en ambos casos. Los rendimientos son mayores cuando se realiza una activación *in situ*, además en ambos casos se obtiene la misma proporción de anómeros.

Tabla 1.3.2.3. Preparación de los **glico-nitropirroles IV** por activación previa y por activación *in situ* del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)**

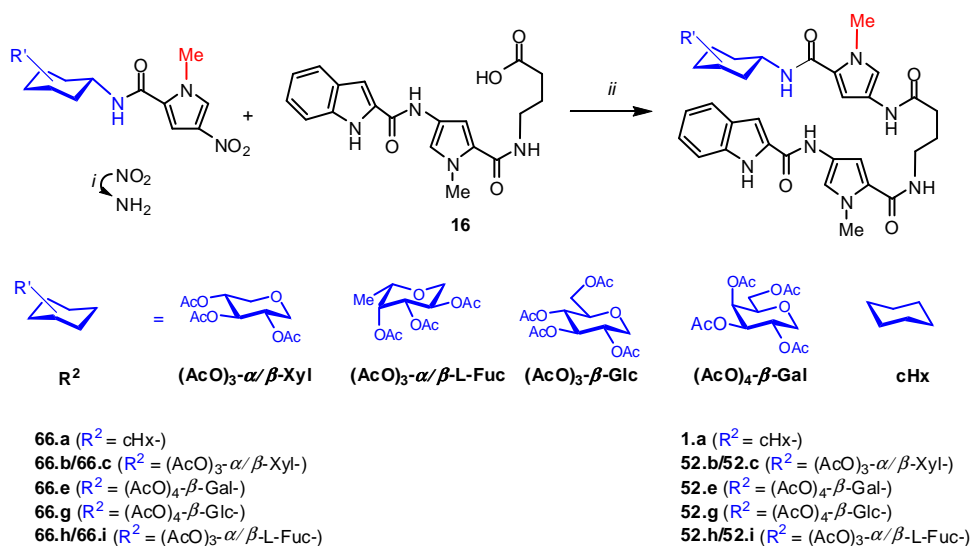
Glico-nitropirroles IV	Activación previa del ácido 64		Activación <i>in situ</i> del ácido 64	
	Rendimiento	α/β	Rendimiento	α/β
cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.a)	60%	-	80%	-
(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NO ₂ (67.b/67.c)	50%	1/1.5	63%	1/1.5
(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NO ₂ (67.e)	38%	β	50%	β

Por lo que se concluye que para la obtención de los derivados acetilados de los glico-nitropirroles **IV** es mejor realizar la activación *in situ* de los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII**.

1.3.3. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I por la Ruta B: Azúcar-Py(B)-NO₂ (o cHx-Py(B)-NO₂) (IV)+ HO- γ -Py(A)-Ind (16)
(Esquema 1.3.1.)

Los compuestos **Azúcar-Py(B)- γ -Py(A)-Ind** (o **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**) **52.a-f** también se prepararon por la **Ruta B** mediante una secuencia de dos etapas a partir de los glico-nitropirroles **IV** (compuestos **66.a-f**) y del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)**. (Esquema 1.3.3.1.)

La primera etapa de la secuencia consistió en la reducción de los glico-nitropirroles **66.a**, **66.b/66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i**, a sus correspondientes aminas, empleando el mismo procedimiento que en el caso de la reducción del grupo nitro del éster **EtO- γ -Py(A)-NO₂** (**13**), (NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH). La segunda etapa implica el acoplamiento de las aminas correspondientes obtenidas y el ácido **HO- γ -Py(A)-Ind** (**16**) empleando HOBt/DIPC como activantes en DMF. Tras aislamiento y purificación se obtuvieron los compuestos **1.a**, **52.b/52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.h/52.i** como sólidos blancos, con rendimientos comprendidos entre el 70 y el 43%. (Esquema 1.3.3.1 y Tabla 1.3.3.1) Los compuestos **1.a**, **52.b/52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.h/52.i** obtenidos por esta ruta tienen unos datos espectroscópicos que coinciden con los de los mismos obtenidos por la **Ruta A**.



Clave: *i.*- NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH; *ii*) HOBt, DIPC, DMF

Esquema 1.3.3.1. Preparación de los compuestos **1.a**, **52.b/52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.h/52.i** por la **Ruta B**

Es importante destacar que en los casos donde las reacciones se realizaron con mezclas de anómeros α/β de los glico-nitropirroles **IV**, se mantiene la proporción de anómeros α/β en los derivados acetilados de las glico-oligoamidas **I**. Esto nos indica que no se debe producir anomerización durante las etapas de reducción y acoplamiento.

En la tabla 1.3.3.1. se muestran los rendimientos y las proporciones α/β obtenidas para la preparación de las glico-oligoamidas acetiladas **I** por la **Ruta B**.

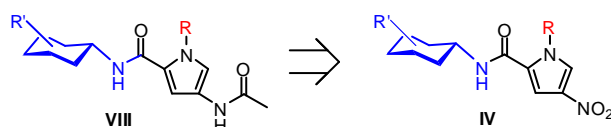
Tabla 1.3.3.1. Preparación de los compuestos **1.a**, **52.b/52.c**, **52.e**, **52.g**, **52.h/52.i** por la **Ruta B**

Glico-nitropirroles IV	Glico-oligoamidas acetiladas I	Rdto
cHx-Py(B)-NO ₂ (66.a)	cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)	70%
(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)-NO ₂ (66.b/66.c) ($\alpha/\beta = 1/1.8$) ^a	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c) ($\alpha/\beta = 1/1.8$) ^a	48%
(AcO) ₃ - α/β -L-Fuc-Py(B)-NO ₂ (66.h/66.i) ($\alpha/\beta = 1/3$) ^a	(AcO) ₃ - α/β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i) ($\alpha/\beta = 1/3$) ^a	66%
(AcO) ₄ - β -Glc-Py(B)-NO ₂ (66.g)	(AcO) ₄ - β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.g)	55%
(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)-NO ₂ (66.e)	(AcO) ₄ - β -Gal Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.e)	43%

^aLa relación α/β se ha calculado por ¹H-RMN en el crudo de reacción.

1.3.4. Preparación de los modelos hebra azúcar Azúcar-Py(B)[R]-NHAc (o cHx-Py(B)[R]-NHAc (Esquema 1.3.4.1.)

Además, los glico-nitropirroles **IV** se han usado para preparar los modelos **hebra azúcar**¹⁰⁰ **VIII** por reducción del grupo nitro a amina seguida de acetilación. (Esquema 1.3.4.1.)



Esquema 1.3.4.1. Esquema retrosintético para la preparación de los **modelos hebra azúcar VIII**. **R** = -Me, -(CH₂)₁₁OH

Los compuestos, **61.a**, **61.b/61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i**, **62.a**, **62.c** y **62.e**, han sido utilizados por el grupo de investigación de la Dr. Cristina Vicent en los estudios conformacionales como modelos de conformación no plegada para comparar con la estructura en horquilla que presentan las **glico-oligoamidas Tipo I** en disolución acuosa.¹⁸ (Figura 1.3.4.1.)

¹⁰⁰ Para ver la definición de hebra azúcar véase el apartado *Nomenclatura*.

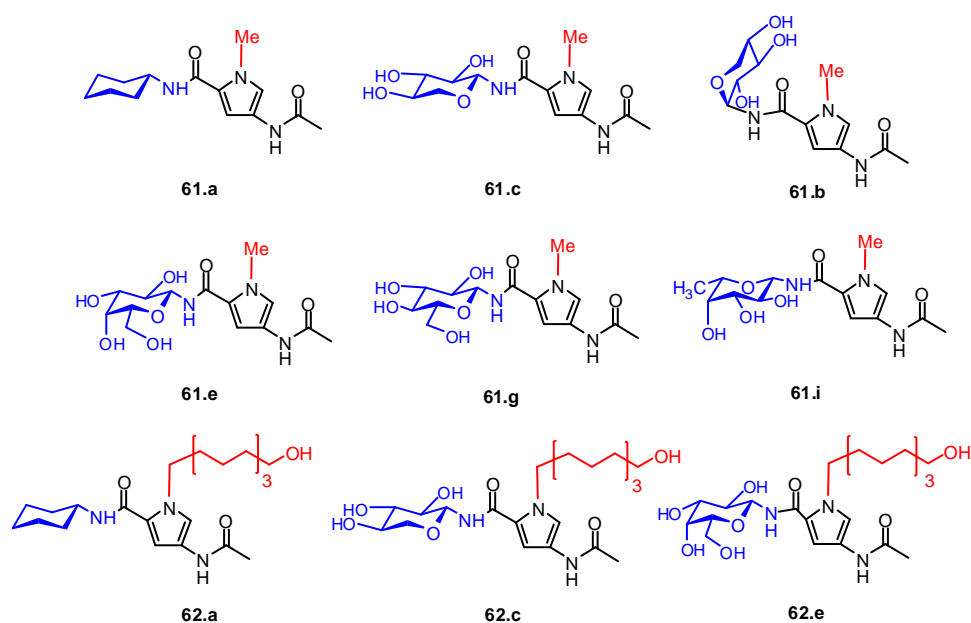
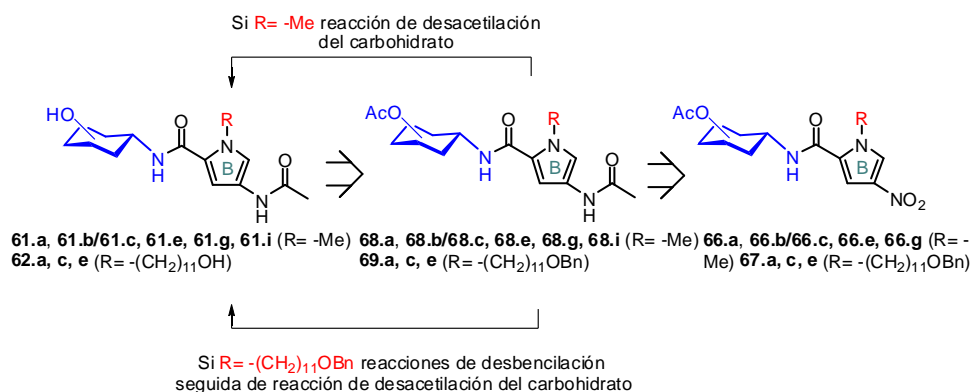


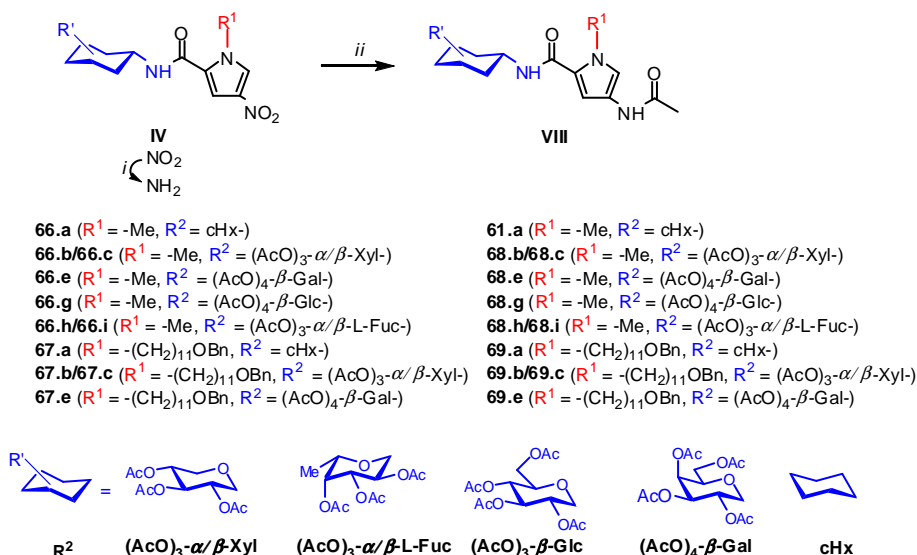
Figura 1.3.4.1. Compuestos **hebra azúcar** preparados como modelos para los estudios conformacionales de las glico-oligoamidas **Tipo I**

Los compuestos **61.a**, **61.b/61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i**, **62.a**, **62.c** y **62.e** (Figura 1.3.4.1.) se obtienen a partir de los glico-nitropirroles **66.a**, **66.b/66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.f/66.i**, **67.a**, **67.b/67.c** y **67.e** mediante la secuencia: reducción del grupo nitró a amina, acetilación de la amina correspondiente, seguida de la desprotección del grupo Bn del extremo de la cadena alquílica y de los grupos acetatos de los diferentes azúcares. (Esquema 1.3.4.2.)



Esquema 1.3.4.2. Esquema retrosintético para la obtención de los compuestos **61.a**, **61.b/61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i**, **62.a**, **62.c** y **62.e**

La preparación de los derivados acetilados de los **modelos hebra azúcar** **61.a**, **68.b/68.c**, **68.e**, **68.g**, **68.h/68.i**, **69.a**, **69.c** y **69.e** a partir de los glico-nitropirroles **66.a**, **66.b/66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i**, **67.a**, **67.c** y **67.e** se llevó a cabo mediante reducción del grupo nitro a amina y posterior acetilación de la amina correspondiente. (Esquema 1.3.4.3.)



Clave: *i.*- NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH; *ii.*- Anhídrido acético¹⁰¹ o cloruro de acetilo¹⁰², Et₃N (o DIEA), CH₂Cl₂

Esquema 1.3.4.3. Preparación de los compuestos **61.a**, **68.b/68.c**, **68.e**, **68.g**, **68.h/68.i**, **69.a**, **69.b/69.c** y **69.e**

Se realizó la reducción del grupo nitró de los glico-nitropirroles, **Azúcar-Py(B)[R]-NO₂** y **cHx-Py(B)[R]-NO₂** (**IV**), a la correspondiente amina con NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH. Tras filtrado sobre celita para eliminar el paladio y eliminación del disolvente, se obtuvieron las correspondientes aminas **Azúcar-Py(B)-NH₂** (o **cHx-Py(B)-NH₂**) que se emplearon en el proceso de acetilación sin posterior purificación. (Esquema 1.3.4.3.)

Para la acetilación de las aminas correspondientes, **Azúcar-Py(B)[R]-NH₂** (o **cHx-Py(B)[R]-NH₂**), se emplearon tres procedimientos: a) Anhídrido

¹⁰¹ Para el caso de los compuestos **66.a**, **66.b/66.c**, **66.h/66.i**, **67.a**, y **67.c**

¹⁰² Para el caso de los compuestos **66.e**, **66.g** y **67.e**

acético, Et₃N, CH₂Cl₂; b) Cloruro de acetilo, Et₃N, CH₂Cl₂; c) Cloruro de acetilo, DIEA, CH₂Cl₂.

Tabla 1.3.4.1. Condiciones de reacción para la obtención de los compuestos **61.a**, **68.b/68.c**, **68.e**, **68.g**, **68.h/68.i**, **69.a**, **69.b/69.c** y **69.e**^a

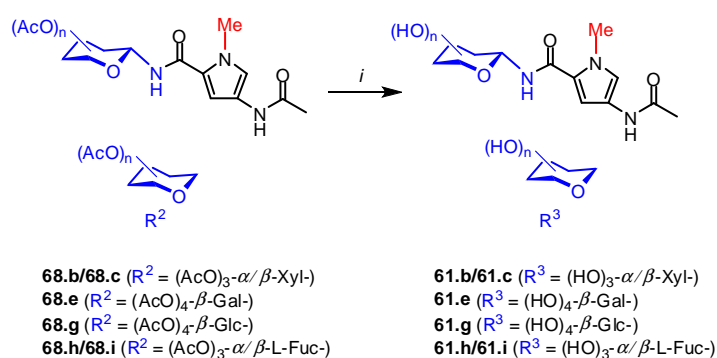
Compuesto	Condiciones	Producto	Rdto
66.a	i)	cHx-Py(B)-NHAc (61.a)	85%
66.b/66.c ($\alpha/\beta = 1/1.8$)	ii)	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)-NHAc (68.b/68.c) ($\alpha/\beta = 1/1.8$)	13%
66.b/66.c ($\alpha/\beta = 1/1.8$)	i)	(AcO) ₃ - α/β -Xyl-Py(B)-NHAc (68.b/68.c) ($\alpha/\beta = 1/1.8$)	72%
66.e	ii)	(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)-NHAc (68.e)	45%
66.g	ii)	(AcO) ₄ - β -Glc-Py(B)-NHAc (68.g)	37%
66.h/66.i ($\alpha/\beta = 1/3$)	i)	(AcO) ₃ - α/β -Fuc-Py(B)-NHAc (68.h/68.i) ($\alpha/\beta = 1/3$)	30%
66.h/66.i ($\alpha/\beta = 1/3$)	i)	(AcO) ₃ - α/β -Fuc-Py(B)-NHAc (68.h/68.i) ($\alpha/\beta = 1/3$)	80%
67.a	i)	cHx-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.a)	89%
67.b/67.c ($\alpha/\beta = 1/1.5$)	i)	(AcO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.b/69.c) ($\alpha/\beta = 1/1.5$)	70%
67.e	i)	(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.e)	0%
67.e	iii)	(AcO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OBn]-NHAc (69.e)	60%

i) Anhídrido acético, Et₃N, CH₂Cl₂; ii) Cloruro de acetilo, Et₃N, CH₂Cl₂; iii) Cloruro de acetilo, DIEA, CH₂Cl₂

^a Los nitroderivados **66.a**, **66.b/66.c**, **66.e**, **66.g**, **66.h/66.i**, **67.a**, **67.b/67.c** y **67.e** fueron previamente reducidos a las aminas correspondientes con NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH.

En la tabla 1.3.4.1. se muestra un resumen de todas las condiciones de reacción ensayadas y de los rendimientos obtenidos para la preparación de los compuestos **61.a**, **68.b/68.c**, **68.e**, **68.g**, **68.h/68.i**, **69.a**, **69.b/69.c** y **69.e** y la proporción α/β obtenida en cada caso.

A continuación, los compuestos **68.b/68.c**, **68.e**, **68.g**, **68.h/68.i** fueron desacetilados con metóxido sódico en metanol. Tras aislamiento y purificación se obtuvieron los compuestos **61.b/61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.h/61.i** como sólidos blancos con rendimientos del 74, 82, 74 y 73% respectivamente. (Esquema 1.3.4.4.)



Clave: *i*.- MeONa, MeOH

Esquema 1.3.4.4. Preparación de los compuestos **61.b/61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.h/61.i**.

En la tabla 1.3.4.2. se muestran los desplazamientos químicos (δ) de las resonancias correspondientes al protón (H-1), al carbono (C-1) y al NH-1 así como las constantes de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ y $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ para los **modelos hebra azúcar** del vector tipo A¹⁰³, los compuestos **Azúcar-Py(B)-NHAc** (**61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i**) y **cHx-Py(B)-NHAc** (**61.a**) en DMSO- d_6 .

¹⁰³ Para ver definición del vector A véase apartado *Nomenclatura*.

Tabla 1.3.4.2. Desplazamientos químicos de las resonancias correspondientes al protón (H-1), al carbono (C-1) y al NH-1 así como las constantes de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ y $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ para los compuestos **61.a**, **61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i** en DMSO- d_6 .

Compuesto	$^1\text{H-RMN}$				$^{13}\text{C-RMN}$
	H-1 (ppm)	NH-1 (ppm)	$^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ (Hz)	$^3J_{\text{H-1/H-2}}$ (Hz)	C-1 (ppm)
cHx-Py(B)-NHAc (61.a)	3.65	7.76	8.1	-	47.5
(HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)-NHAc (61.c)	4.67	8.35	8.6	9.2	80.05
(HO) $_4$ - β -Gal Py(B)-NHAc (61.e)	4.83	8.36	8.9	8.9	80.01
(HO) $_4$ - β -Glc-Py(B)-NHAc (61.g)	4.88	8.33	8.9	8.9	79.60
(HO) $_3$ - β -L-Fuc-Py(B)-NHAc (61.i)	4.79	8.28	9.0	8.7	80.00

La constante de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ tiene valores comprendidos entre 8.7-9.2 Hz en todos los casos. Este valor está de acuerdo con una disposición trans-diaxial entre H-1 y H-2, los que corrobora el enlace β del residuo amino-pirrol en la posición anomérica ya que H-2 es axial en todos los azúcares empleados.

La constante de acoplamiento entre el protón H-1 de la piranosa y el NH del enlace amídico, para los compuestos **61.a**, **61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i**, se encuentran entre 8.1 y 9.0 Hz (tabla 1.3.4.2.); estas constantes de acoplamiento normalmente están en concordancia con una disposición *anti* para el enlace $\text{CH}_1\text{-NH}$.^{64.a, 64f, 79, 80} Además, en base a los datos espectroscópicos de otras glicosilamidas descritas en

la bibliografía^{64.a, 64f, 80} y a estudios conformacionales realizados en nuestro grupo de investigación¹⁸ de las glico-oligoamidas Tipo I podría proponerse una configuración Z para el enlace amida R-NH-CO-R' para los **modelos hebra azúcar VIII**. (Figura 1.3.4.2.)

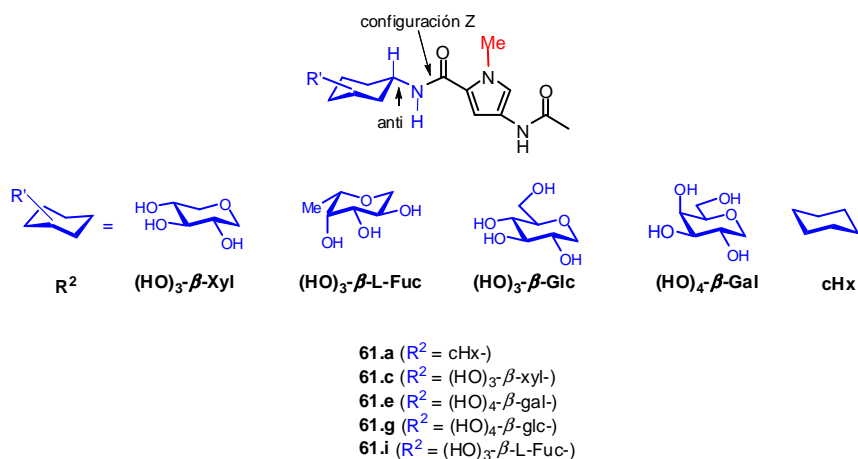
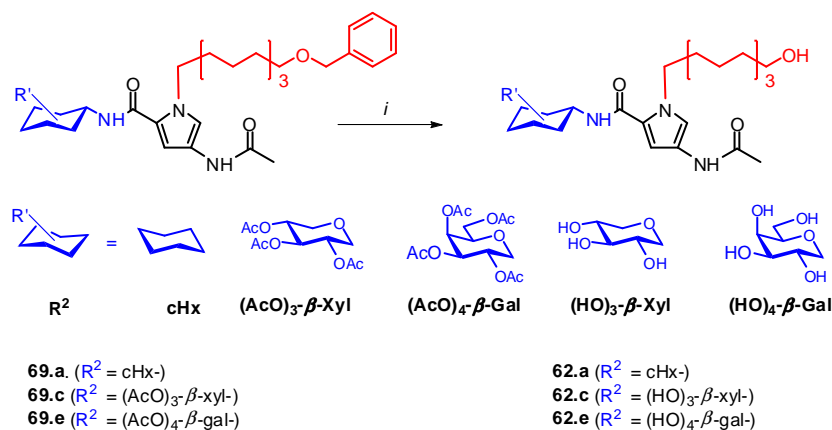


Figura 1.3.4.2. Modelos hebra azúcar VIII 61.a, 61.c, 61.e, 61.g, 61.i con estructura Z
anti

Para la preparación de los modelos de la hebra azúcar con estructura de vector B, **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc**, para llegar a los derivados totalmente desprotegidos, se ensayó en una secuencia de desbencilación y posterior desacetilación.

Así, los compuestos **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.a)**, **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.c)** y **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.e)** fueron desbencilados en atmósfera de H₂ a presión atmosférica, usando Pd/C (5%) como catalizador, en metanol. Tras filtración sobre celita para eliminar el Pd/C, evaporación del disolvente y purificación se obtuvieron los

compuestos **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc** (**62.a**), **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc** (**62.c**) y **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc** (**62.e**) con rendimientos del 60, 60 y 45% respectivamente. (Esquema 1.3.4.4.) Sorprendentemente, se aislaron los derivados desacetilados **62.c** y **62.e**. Se ha comprobado experimentalmente que la desacetilación ocurre en el proceso de filtrado sobre tierra de diatomeas.⁸³



Clave: *i*.- H₂, Pd/C (5%), MeOH

Esquema 1.3.4.4. Preparación de los compuestos **62.a, c, e**

En la tabla 1.3.4.3. se muestran los desplazamientos químicos (δ) de las resonancias correspondientes al protón (H-1), al carbono (C-1) y al NH-1 así como las constantes de acoplamiento $^3J_{H-1/NH-1}$ y $^3J_{H-1/H-2}$ para los compuestos **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc** (**62.c, e**) y **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc** (**62.a**) en DMSO-d₆; éstos son los **modelos hebra azúcar** del vector tipo B¹⁰⁴.

¹⁰⁴ Para ver definición del vector A véase apartado *Nomenclatura*.

Tabla 1.3.4.3. Desplazamientos químicos (δ) de las resonancias correspondientes al protón (H-1), al carbono (C-1) y al NH-1 así como las constantes de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ y $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ para los compuestos **62.a, c, e** en DMSO- d_6 .

Compuesto	$^1\text{H-RMN}$			$^{13}\text{C-RMN}$	
	H-1 (ppm)	NH anom. (ppm)	$^3J_{\text{H-1/NH-1}}$ (Hz)	$^3J_{\text{H-1/H-2}}$ (Hz)	C-1 (ppm)
cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.a)	3.81	5.75	8.3	-	48.0
(HO) ₃ - β -Xyl-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.c)	4.47	8.33	8.8	9.0	80.5
(HO) ₄ - β -Gal-Py(B)[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.e)	4.83	8.33	8.9	9.0	80.1

La constante de acoplamiento $^3J_{\text{H-1/H-2}}$ tiene un valor de 9.0 Hz en todos los casos. Este valor está de acuerdo con una disposición trans-diaxial entre H-1 y H-2, los que corrobora el enlace β del residuo amino-pirrol en la posición anomérica ya que H-2 es axial en todos los azúcares ensayados.

En este caso, la constante de acoplamiento entre el protón H-1 de la piranosa y el NH del enlace amídico, para los compuestos **62.a, c, e**, se encuentran entre 8.30 y 8.90 Hz (tabla 1.3.4.3.); una vez más estas constantes de acoplamiento están en concordancia con una estructura preferente *anti* para el enlace CH₁-NH.^{64a, 64f}

Además, en base a otras glicosilamidas descritas en la bibliografía^{64a, 64f, 80} y en estudios conformacionales realizados para la glico-oligoamida Tipo I, con estructura general de vector B, (HO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind

(2.c), se propone una configuración Z para el enlace amida R-NH-CO-R' para los **modelos hebra azúcar VIII** de los compuestos tipo vector B. (Figura 1.3.4.3.)

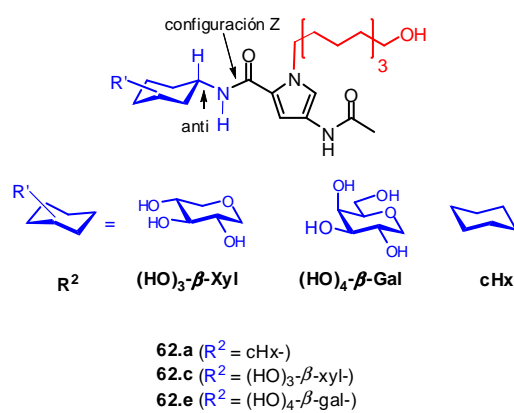
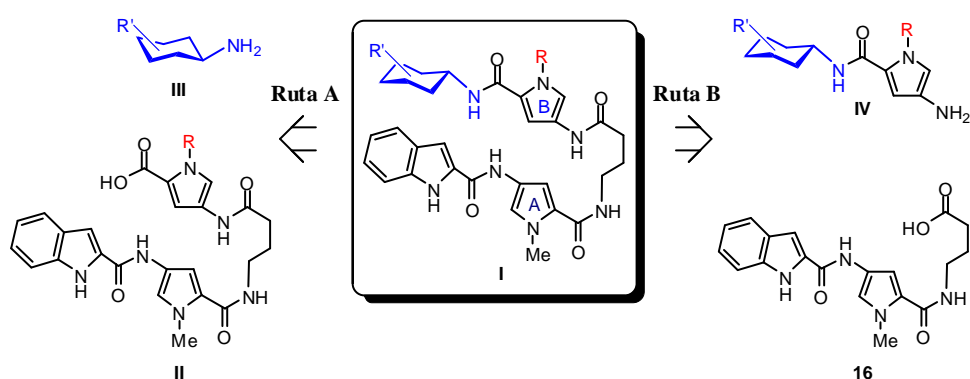


Figura 1.3.4.3. Compuestos **62.a, c, e** con estructura tipo Z anti

1.4. COMPARACIÓN DE LAS RUTAS A Y B PARA LA PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS

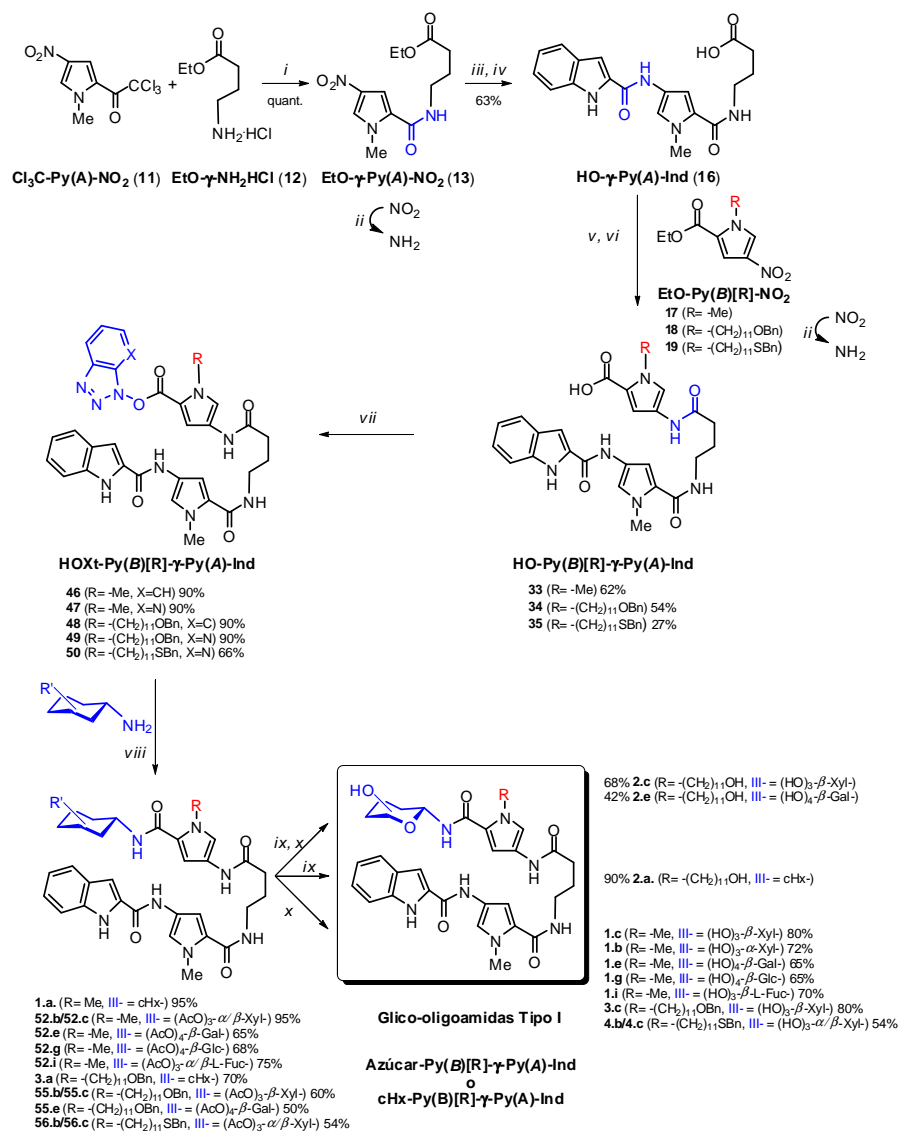
Como conclusión, se ha puesto a punto una metodología sintética versátil para la obtención de **glico-oligoamidas Tipo I** en disolución por dos rutas sintéticas alternativas: **Ruta A (ruta lineal):** Azúcar-NH₂ + HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind y **Ruta B (ruta convergente):** Azúcar-Py(B)-NO₂ + HO-γ-Py(A)-Ind. (Esquema 1.4)



Esquema 1.4. Esquemas retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas** por las **Rutas A y B**. **R**: -Me, -(CH₂)₁₁OH, -(CH₂)₁₁OBn, -(CH₂)₁₁SBn; **aminas de fórmula general III**: cHx-NH₂ (**51**), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₃-β-L-Fuc-NH₂ (**37**), (AcO)₄-β-Glc-NH₂ (**38**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**)

La **Ruta A** consiste en la preparación de los ácidos oligoamídicos **II** (Esquema 1.4), activación y reacción de éstos con las aminas **III** (Esquema 1.4) para la formación del enlace amidoglicosídico.

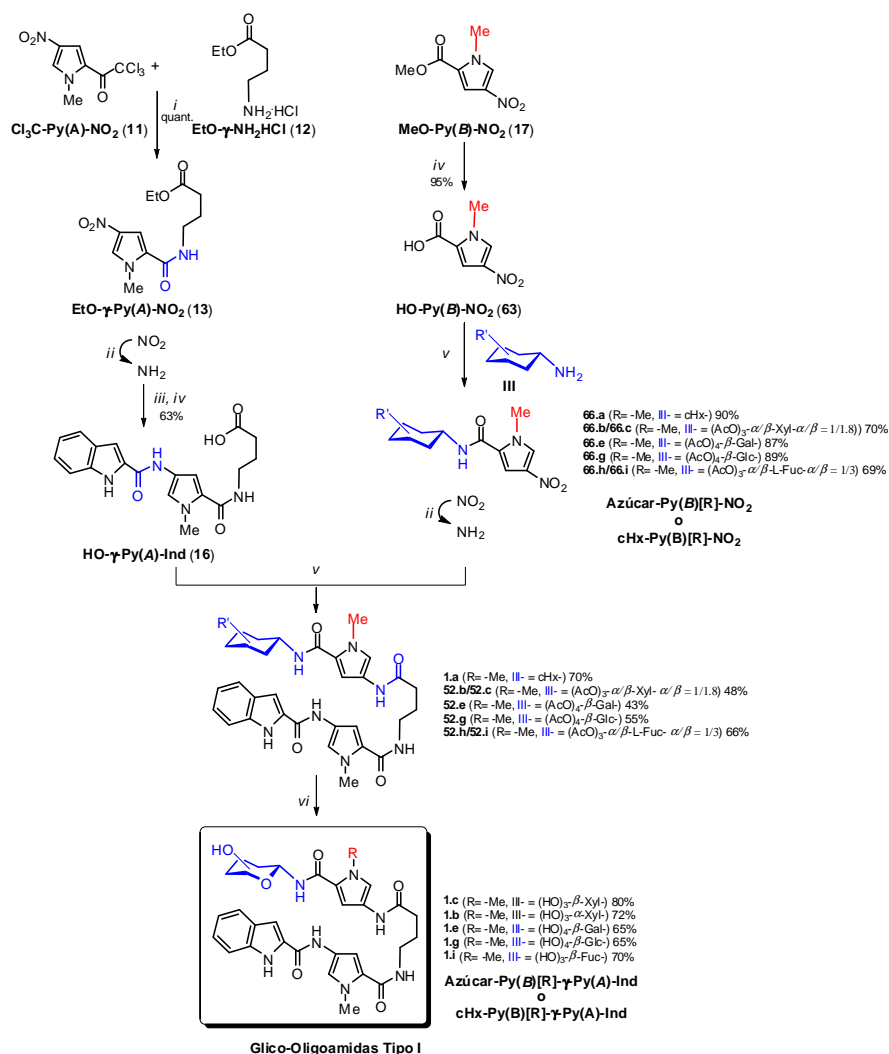
En el esquema 1.4.1 se muestra el esquema sintético para la preparación de las glico-oligoamidas **Tipo I** por la **Ruta A**.



Claves: *i.*- Et₃N, AcOEt *ii.*- NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH *iii.*- 1H-indol-2-ácido carboxílico, DIPIC, HOBT, DMF, CH₂Cl₂ *iv.*- LiOH/H₂O, THF/H₂O *v.*- HOBT, DIPIC, DMF *vi.*- LiOH/H₂O, dioxano, H₂O *vii.*- HOBT (o HOAt), TFFH, DIEA, DMF *viii.*- DIEA, DMF *ix.*- H₂, Pd/C (5%), MeOH *x.*- MeONa, MeOH

Esquema 1.4.1.: Esquema sintético para la preparación de glico-oligoamidas **Tipo I** por la **Ruta A**

En el esquema 1.4.2 se muestra la síntesis de las **glico-oligoamidas Tipo I** por la **Ruta B**.



La **Ruta B** consiste en la preparación de los glico-nitropirroles **IV** (Esquema 1.4), seguido de la formación del enlace amida entre las aminas derivadas de éstos y el ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)**.

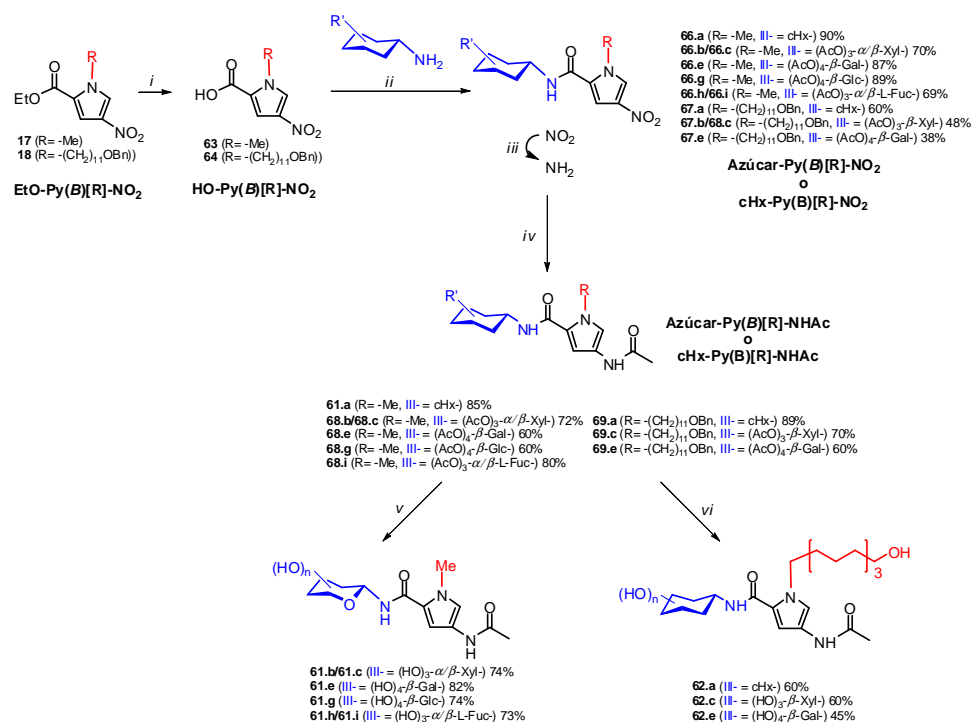
En la tabla 1.4.1. se muestran los rendimientos globales para la obtención de las glico-oligoamidas **Tipo I** por las **Rutas A y B**.

Tabla 1.4.1. Rendimientos^a globales para la obtención de las glico-oligoamidas **Tipo I** por las **Rutas A y B**.

Glico-oligoamida Tipo I	Ruta A	Ruta B
cHx-Py- γ -Py-Ind (1.a)	27%	33%
(HO) ₃ - β -Xyl-Py- γ -Py-Ind (1.c)	11%	9%
(HO) ₃ - α -Xyl-Py- γ -Py-Ind (1.b)	11%	5%
(HO) ₄ - β -Gal-Py- γ -Py-Ind (1.e)	10%	13%
(HO) ₄ - β -Glc-Py- γ -Py-Ind (1.g)	10%	17%
(HO) ₃ - β -L-Fuc-Py- γ -Py-Ind (1.i)	11%	13%
cHx-Py[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py-Ind (2.a)	13%	-
(HO) ₃ - β -Xyl-Py[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py-Ind (2.c)	4%	-
(HO) ₄ - β -Gal-Py[(CH ₂) ₁₁ OH]- γ -Py-Ind (2.e)	4%	-
(HO) ₃ - β -Xyl-Py[(CH ₂) ₁₁ SBn]- γ -Py-Ind (4.c)	1.5%	-
(HO) ₃ - α -Xyl-Py[(CH ₂) ₁₁ SBn]- γ -Py-Ind (4.b)	1.5%	-

^a Los rendimientos hacen referencia a la cantidad de glico-oligoamida Tipo I aislada.

Por la **Ruta B** también se han sintetizado los modelos **hebra azúcar** correspondientes a las **glico-oligoamidas tipo I**. Como ya se ha mencionado, estos compuestos se han empleado como modelos de conformación no plegada para comparar con la estructura en horquilla que presentan las **glico-oligoamidas Tipo I** en disolución acuosa. (Esquema 1.4.3.)



Clave: *i.*- LiOH·H₂O, THF/H₂O *ii.*- HOBt, DIPC, DMF *iii.*- NaBH₄, Pd/C (5%), AcOEt/EtOH; *iv.*- Anhidrido acético¹⁰⁵ o cloruro de acetilo, DIEA, CH₂Cl₂¹⁰⁶ *v.*- MeONa, MeOH *vi.*- H₂, Pd/C (5%), MeOH

Esquema 1.4.3. Preparación de los sintetizado los modelos de la **hebra azúcar 61.a, 61.b/61.c, 61.e, 61.g, 61.h/61.i y 62.a, 62.c y 62.e**

¹⁰⁵ Para el caso de los compuestos **66.a, 66.b/66.c, 66.h/66.i, 67.a y 67.c**

¹⁰⁶ Para el caso de los compuestos **66.e, 66.g y 67.e**

En la tabla 1.4.2. se muestran los rendimientos globales para la obtención de los modelos hebra azúcar **61.a**, **61.c**, **61.e**, **61.g**, **61.i** y **62.a**, **62.c** y **62.e**

Tabla 1.4.2. Rendimientos globales para la obtención de los modelos hebra azúcar.

Modelos hebra azúcar	Ruta B
cHx-Py-NHAc (61.a)	73%
(HO) ₃ - β -Xyl-NHAc (61.c)	28%
(HO) ₄ - β -Gal-Py-NHAc (61.e)	40%
(HO) ₄ - β -Glc-Py-NHAc (61.g)	41%
(HO) ₃ - β -L-Fuc-Py-NHAc (61.i)	25%
cHx-Py[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.a)	27%
(HO) ₃ - β -Xyl-Py[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.c)	15%
(HO) ₄ - β -Gal-Py[(CH ₂) ₁₁ OH]-NHAc (62.e)	10%

Cabe destacar, además, que tanto por la **Ruta A** como por la **Ruta B**, se produce anomerización cuando se realiza la reacción de acoplamiento entre los aminoazúcares **III** y los ácidos oligoamídicos **II** activados previamente (Compuestos **46-50**) (**Ruta A**, Esquema 1.4.1) o entre los aminoazúcares **III** y los 2-ácidos carboxílicos *N*-alquil nitropirroles **VII** (Compuestos **63**, **64**, Esquemas 1.4.2 y 1.4.3). (Ver apartados 1.2.6. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas y 1.3.2. Preparación de los glico-nitropirroles IV)

Debido a que las proporciones α/β obtenidas en cada caso son similares (Tabla 1.4.3.) y que los rendimientos de las dos rutas son del mismo orden (Tabla 1.4.1.), la **Ruta A** será la más adecuada cuando se requiera sintetizar una familia

de glico-oligoamidas, **Azúcar-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**, con diversidad en el carbohidrato para un R determinado. Esta ruta ofrece la posibilidad de preparar los ácidos oligoamídicos **II** (**HO-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**) a gran escala. La reacción de estos ácidos con diversas aminas (**III**) permite la posibilidad de obtener una amplia variedad de compuestos.

Se empleará la **Ruta B** cuando se requieran sintetizar los modelos **Azúcar-Py(B)-NHAc** (o **cHx-Py(B)-NHAc**) ya que por la **Ruta A** no se obtienen dichos intermedios.

1.5. SÍNTESIS DE MIMÉTICOS DE GLICO-PÉPTIDOS

1.5.1. Introducción

Como se ha mencionado en la Introducción, es de especial interés profundizar en el conocimiento de las bases moleculares de la interacción glico-proteína/ADN dado que existen glico-proteínas nucleares que actúan como factores de transcripción. En particular, se ha demostrado el papel fundamental que la *N*-acetilglucosamina (*O*-GlcNAc) juega en el control de la transcripción del ADN.¹⁰⁷ Así, en determinados factores de transcripción la unión β de *N*-acetilglucosamina (*O*-GlcNAc) al hidroxilo de L-serina (L-Ser) ó L-treonina (L-Thr) modula la transcripción del ADN.¹⁰⁸

Para estudiar los factores que influyen en las interacciones glico-proteína/ADN se va a llevar a cabo el diseño y síntesis de miméticos de glico-péptidos.

Llamaremos **miméticos de glico-péptidos** a los derivados de **glico-oligoamidas** que presentan la unidad estructural **-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**¹⁰⁹ (vector del surco menor del ADN) unida a los derivados de L-treonina (L-Thr) o L-serina (L-Ser) glicosilados con *N*-acetilglucosamina (β -*O*-GlcNAc). (Figura 1.5.1.)

¹⁰⁷ a) Vosseller, K.; Sakabe, K.; Wells, L.; Hart, G. W.; *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 851-857; b) Zachara, N. E.; Hart, G. W.; *Chem. Rev.* **2002**, 102, 431-438.

¹⁰⁸ a) Hiromura, M.; Choi, C. H.; Sabourin, N. A.; Jones, H.; Bachvarov, D.; Usheva, A. J. *Biol. Chem.* **2003**, 278, 14046-14052. b) Kuo, M.; Zilberfarb, V.; Gangneux, N.; Christeff, N.; Issad, T. *Biochimie* **2008**, 90, 679-685. c) Zachara, N. E.; Hart, G. W. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, **2006**, 1761, 599-561. d) Issad, T.; Kuo, M. *Cell*, **2008**, 19, 380-389.

¹⁰⁹ Fragmento común con las Oligoamidas Tipo I.

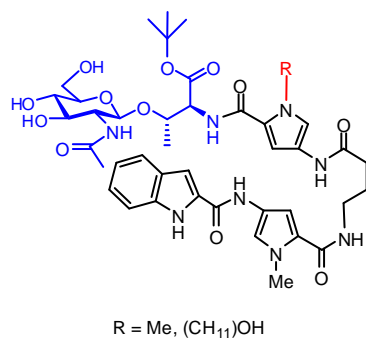
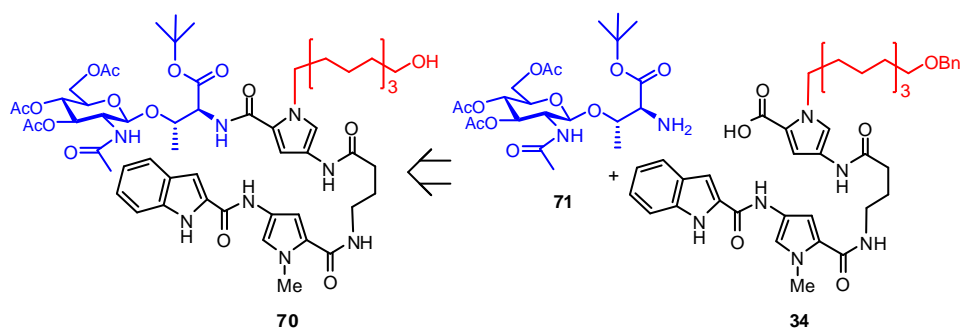


Figura 1.5.1. Ejemplos de miméticos de **glico-péptidos** derivados de L-treonina (L-Thr)

En base a la metodología sintética descrita en este capítulo, en la que se ha puesto a punto la reacción de acoplamiento de los ácidos oligoamídicos **II** (**HO-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**) y diferentes aminoazúcares (**Azúcar-NH₂**) mediante la activación de los ácidos con TFFH/HOBt/DMF, nos propusimos seguir esta misma metodología para sintetizar diferentes miméticos de glico-péptidos.

En esta memoria se recoge un ejemplo de la síntesis de un **mimético de glico-péptido** a partir del correspondiente éster activado del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind** (**34**), que contiene en su estructura el vector B, y de la amina (**AcO**)₃- **β -O-GlcNAc-Thr-NH₂** (**71**) siguiendo el siguiente esquema retrosintético: (Esquema 1.5.1)



Esquema 1.5.1. Esquemas retrosintético para la síntesis de **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (70)**

La preparación del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (34)** se ha descrito previamente en el apartado: **1.2.4. Preparación de los equivalentes sintéticos de los ácidos oligoamídicos II** (Compuestos **33**, **34** y **35**) y la amina **71** ha sido sintetizada en el grupo de la Dr. Vicent laboratorio por el doctorando Rafael del Villar Guerra.¹¹⁰

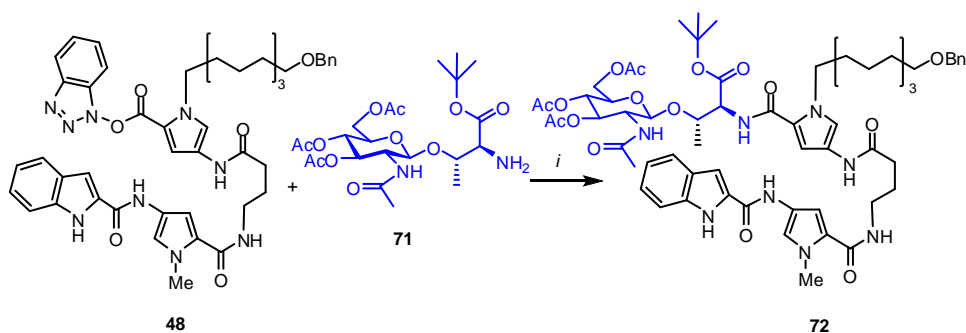
1.5.2. Preparación de (AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (70)

Como se ha presentado en el apartado de este capítulo (**1.2.6. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I**) el método sintético que finalmente resultó más adecuado para la formación del enlace amida entre los ácidos oligoamídicos **II** (**HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind**) y diferentes aminoazúcares (**Azúcar-NH₂**) fue el aislamiento de los ésteres activados, **BtO-Py(B)[R]-γ**

¹¹⁰ a) C. Vicent, R. del Villar Guerra, J. Jiménez-Barbero; "Glycoprotein mimic: Chemical Tools for Understanding the Chemical and Biochemical Nature of Glycoprotein-DNA Interactions" The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Tokio, Japón, Agosto 2010. b) R. del Villar Guerra, J. Jiménez-Barbero, P. Noheda, C. Vicent; "Chemical tools for the understanding of the biology behing glycoprotein-DNA binding", 2nd European Conference on Chemistry for Life Cience, Polonia, Septiembre 2007

Py(A)-Ind, seguida de la reacción de éstos con las aminas en presencia de DIEA en DMF.

Por lo tanto, se realizó la reacción del éster **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind** (**48**)¹¹¹ y la amina **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-NH₂** (**71**)¹¹⁰ empleando las mismas condiciones que para la preparación de las **glico-oligoamidas Tipo I** (DIEA/DMF). Tras aislamiento y purificación se obtuvo **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind** (**72**) como un sólido blanco con un rendimiento del 55 %. (Esquema 1.5.2.1.)



Clave: *i*) DIEA, DMF

Esquema 1.5.2.1. Preparación de **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind** (**72**)

Cabe destacar que la reacción de acoplamiento tiene un rendimiento del mismo orden que para la síntesis de sus análogos **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind** (o **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind** (**3.a**)). (Tabla 1.5.2.1.)

¹¹¹ Para la preparación del éster activado **BtO-Py[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py-Ind** (**48**) ver parte experimental. Sección: 1.8.4. Preparación de **BtO-Py[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py-Ind** (**48**).

Tabla 1.5.2.1. Reacciones de obtención de los compuestos **3.a**, **52.b-e** y **70**

Amina III	Éster activado	Producto	Rdto
51	48	cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.a)	70%
36	48	(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.b + 55.c) ($\alpha/\beta = 1/1$)	65%
39	48	(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.d + 55.e) ($\alpha/\beta = 1/5$)	50%
70	48	(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (72)	55%

La obtención de **(AcO)₃- β -O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (72)** pone de manifiesto que la metodología sintética puesta a punto puede ser general para la formación del enlace amida del fragmento oligoamídico - **Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind** con aminas anoméricas de diferentes de carbohidratos y con aminas de α -aminoácidos.

Además, cabe destacar que los tres grupos protectores presentes en **(AcO)₃- β -O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (72)** son ortogonales; por lo que se pueden llevar a cabo reacciones de desprotección selectiva de los mismos para modificar la molécula en diferentes posiciones. (Figura 1.5.2.1.)

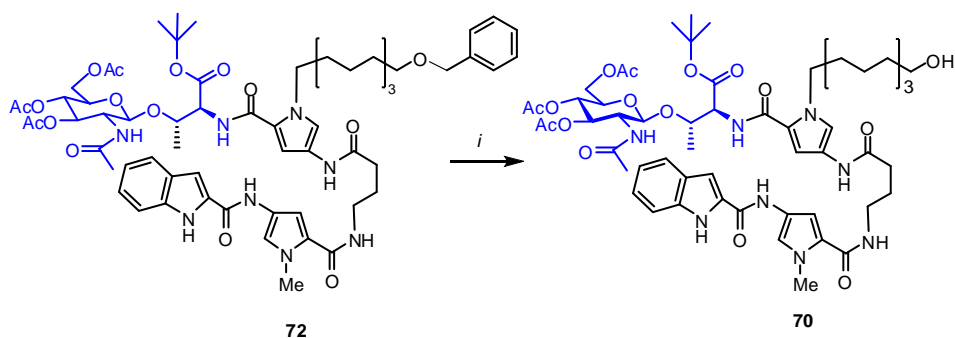
Realizando una desprotección selectiva de los grupos acetatos del carbohidrato en presencia de los grupos *tert*-butilo del aminoácido y el grupo Bn de la cadena se obtendría **(HO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (73)**. (Figura 1.5.2.1.)

Realizando una desprotección selectiva del grupo *tert*-butilo en presencia de los grupos acetatos del carbohidrato y del grupo Bn de la cadena podrían introducirse modificaciones en el fragmento del aminoácido. (Figura 1.5.2.1.)

Por último, realizando la desprotección selectiva del grupo Bn de la cadena en presencia de los grupos acetatos del carbohidrato y del grupo *tert*-butilo del aminoácido pueden realizarse modificaciones en el extremo de la cadena alquílica. (Figura 1.5.2.1.)

Con esta estrategia sintética puede obtenerse diversidad en la familia de **miméticos de glico-péptidos** derivados de las glico-oligoamidas.

En la actualidad ya se ha llevado a cabo la desprotección del grupo Bn de **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (72)** en presencia del carbohidrato protegido con acetatos y del aminoácido protegido con un grupo *tert*-butilo. La hidrogenación del compuesto **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (72)** empleando H₂ a presión atmosférica y Pd/C (5%) como catalizador en metanol condujo, tras aislamiento y purificación, al compuesto **(AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (70)** con un rendimiento del 40% como un sólido blanco. (Esquema 1.5.2.2.)



Clave: i) H₂, Pd/C (5%), MeOH

Esquema 1.5.2.2. Preparación del compuesto (AcO)₃- β -O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (70)

La asignación de ¹H y ¹³C-RMN del compuesto (AcO)₃- β -O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (70) se realizó en base a experimentos COSY, TOCSY, NOESY, HSQC y HMBC en acetona-d₆.

En la figura 1.5.2.2. se resumen las resonancias correspondientes al fragmento β -O-GlcNAc-Thr- en acetona-d₆. Las resonancias del fragmento oligoamídico tienen un perfil análogo al resto de las glico-oligoamidas. (Figura 1.5.2.2.)

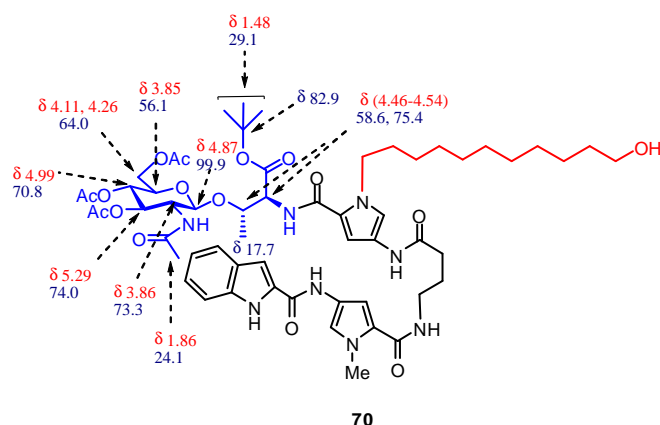


Figura 1.5.2.2. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C -RMN de las resonancias del residuo $\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-}$ del compuesto **70** en acetona- d_6

Por último, se ha realizado un estudio conformacional del $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OH]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (**70**) en acetona- d_6 para determinar la presencia o no de estructura en horquilla en disolución.

En el espectro 2D-NOESY en acetona- d_6 se observan los nOes intra hebra del fragmento de oligoamida de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OH]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (**70**) aunque no se detectaron nOes inter hebra entre los pirroles A y B ni entre el fragmento $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-}$ y el indol. Todo parece indicar que las conformaciones mayoritarias en disolución son las lineales.¹¹² (Figura 1.5.2.3)

¹¹² En el caso del compuesto $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OH]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (**70**) el azúcar está acetilado.

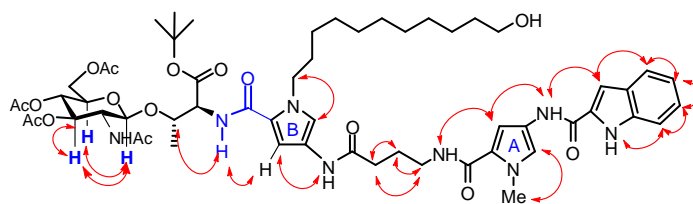


Figura 1.5.2.3. nOe's más característicos detectados en el espectro 2D-NOESY de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-Py(B)}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (**70**) en acetona- d_6 .

Respecto de la conformación de la *N*-acetilglucosamina ($(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-O-GlcNAc-}$), tanto la existencia de nOes entre H-1/H-5, H-1/H-3 y H-3/H-5, como las constantes de acoplamiento 3J , indican que la conformación del anillo de piranosa es $^4\text{C}_1$.

Así, se ha caracterizado un glico-mimético que contiene $\beta\text{-O-GlcNAc-Thr-}$ y una cadena alquílica con un hidroxilo terminal. Esta cadena es susceptible de ser modificada en el extremo.

El desarrollo de esta sección del Proyecto General cuyo objetivo es la obtención de miméticos de glico-péptidos, está siendo realizado en el grupo de investigación de la Dr. Cristina Vicent por el licenciado Rafael del Villar Guerra en el contexto de su tesis doctoral.¹¹⁰

CAPÍTULO 2

PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II

2. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II

2.1. INTRODUCCIÓN

En el capítulo 1 de la Tesis Doctoral se ha desarrollado un procedimiento sintético para la preparación de **glico-oligoamidas Tipo I**.

Después de superar las dificultades sintéticas de la reacción de acoplamiento entre los ácidos oligoamídicos II, **HO-Py(B)[R]- γ -Py(A)-Ind**, y diferentes aminas, en el capítulo 2 se va a abordar la síntesis de compuestos de una mayor complejidad estructural.

En este capítulo se va a describir una metodología sintética para introducir modificaciones en el extremo de la cadena alquílica, sustituyente del nitrógeno del pirrol B, dando lugar a un segundo centro de interacción. De esta manera se obtienen lo que denominamos **glico-oligoamidas Tipo II**, **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁X-O]- γ -Py(A)-Ind**. (X = O, S; **O** = representación general para el segundo centro de interacción) (Figura 2.1.1.)

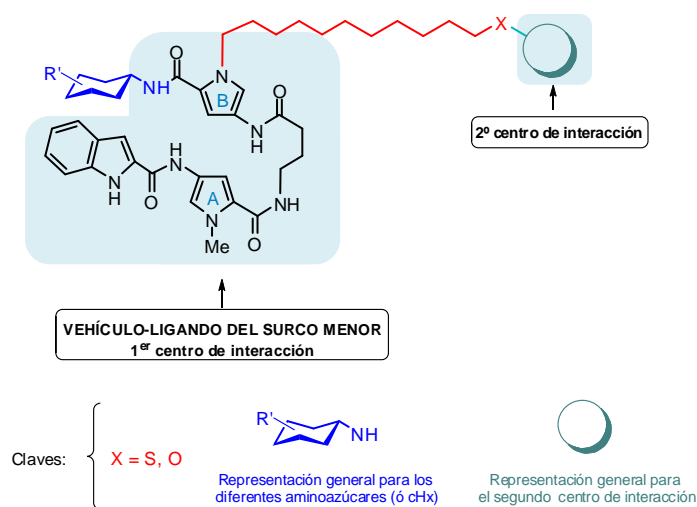


Figura 2.1.1. Glico-oligoamidas Tipo II

Desde un punto de vista sintético llamaremos **glico-oligoamidas Tipo II** a aquellas que contienen en su estructura la unidad estructural **-Py(B)[(CH₂)₁₁X]-γ-Py(A)-Ind**¹ (X = O, S) con una sustitución en el extremo de la cadena alquílica.² (Figura 2.1.1.)

Desde un punto de vista funcional, todas ellas mantienen el centro de reconocimiento por el surco menor del ADN (**-Py(B)-γ-Py(A)-Ind**) y poseen un posible centro de interacción en el extremo de la cadena alquílica. Este segundo centro de reconocimiento puede ser susceptible de formar complejos con el ADN (con los surcos, o por intercalación) o con cualquier sustrato o biomolécula.

En el presente capítulo de esta Tesis se describe la síntesis de **glico-oligoamidas Tipo II** en disolución por dos rutas sintéticas alternativas:

a) **Ruta C: Azúcar-NH₂ + HO-Py(B)[(CH₂)₁₁X-O]-γ-Py(A)-Ind**

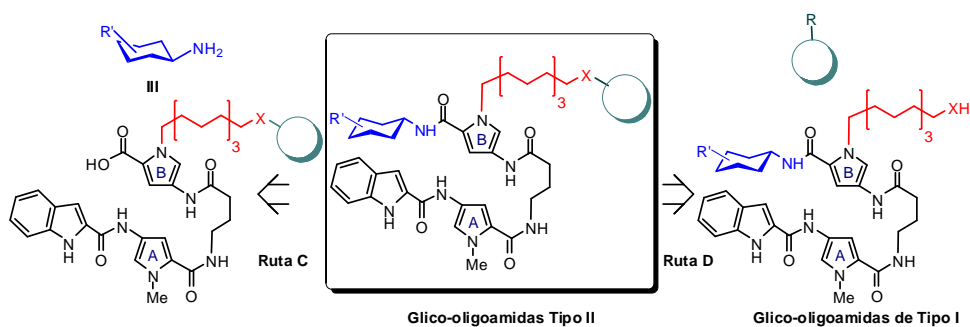
Ésta implica la preparación de los ácidos oligoamídicos **HO-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γ-Py(A)-Ind**, previamente sustituidos en el extremo de la cadena alquílica, seguida de la formación del enlace amidoglicosídico mediante la reacción de acoplamiento de éstos convenientemente activados con diferentes aminoazúcares adecuadamente protegidos o con la cHx-NH₂ (aminas **III**) para dar lugar a las correspondientes **glico-oligoamidas Tipo II**. (Esquema 2.1.1)

b) **Ruta D: Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁XH]-γ-Py(A)-Ind + R-O.**


Ésta implica la preparación de las **glico-oligoamidas Tipo I (Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nXH]-γ-Py(A)-Ind)** seguida de la sustitución del extremo de la cadena alquílica para dar lugar a las correspondientes **glico-oligoamidas Tipo II**. (Esquema 2.1.1)

¹ Fragmento común con las glico-oligoamidas Tipo I.

² Ver el apartado *Nomenclatura*

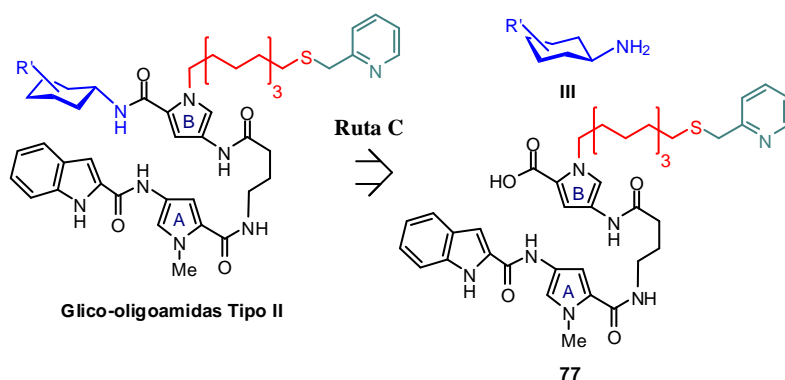


Esquema 2.1.1. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas Tipo II** por las **Rutas C y D**. **X** = O, S; **aminas de fórmula general III**: cHx-NH_2 (**51**), $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ (**36**), $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-NH}_2$ (**39**); **R** = cualquier grupo funcional que reaccione con XH ;

 = representación general para el segundo centro de interacción.

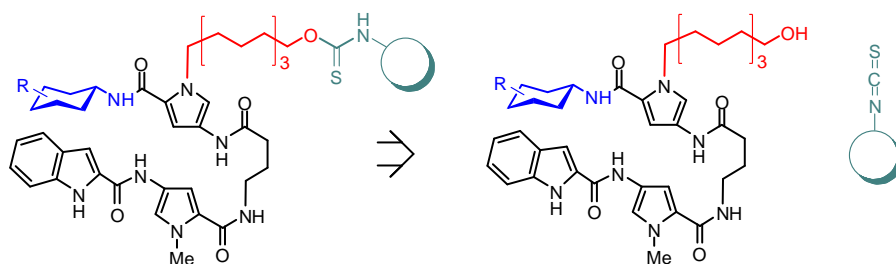
Las **glico-oligoamidas Tipo II** se pueden clasificar a su vez dependiendo del sustituyente en el extremo de la cadena alquílica. Para facilitar la descripción de las estructuras de acuerdo con el producto de partida empleado en la síntesis, éstas se han agrupado en:

1. Las preparadas a partir de derivados de azufre en los que el sustituyente del extremo de la cadena alquílica está unido por medio de un enlace tioéter. Éstas han sido sintetizadas por la **Ruta C**: **Azúcar-NH₂** (o **cHx-NH₂**) + **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁S-CH₂py]-γ-Py(A)-Ind.** (Esquema 2.1.2.)



Esquema 2.1.2. Glico-oligoamidas Tipo II en las que el sustituyente del extremo de la cadena alquílica (CH_2py) está unido a la cadena alquílica mediante un enlace tioéter

2. Las preparadas a partir de las **glico-oligoamidas Tipo I**, en las que el sustituyente del extremo de la cadena alquílica está unido por medio de un grupo tiocarbamato. Éstas han sido sintetizadas por la **Ruta D: Azúcar-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$]- γ -Py(A)-Ind + SCN-O** (O = representación general para el segundo centro de interacción) (Esquema 2.1.3.)



Esquema 2.1.3. Esquema retrosintético para la preparación de **glico-oligoamidas Tipo II** a partir de **glico-oligoamidas Tipo I**.

Cabe destacar además, que la introducción de sustituyentes en el extremo de la cadena alquílica (**glico-oligoamidas Tipo II**) abre la posibilidad de obtener compuestos que sean ligandos **di** y **multivalentes**.

En el grupo de investigación de la Dra. Cristina Vicent se han iniciado una serie de proyectos encaminados a abordar la obtención de glico-oligoamidas di y multivalentes para estudiar su interacción con el ADN.

Algunas propuestas de **glico-oligoamidas divalentes** aparecen en la figura 2.1.2.

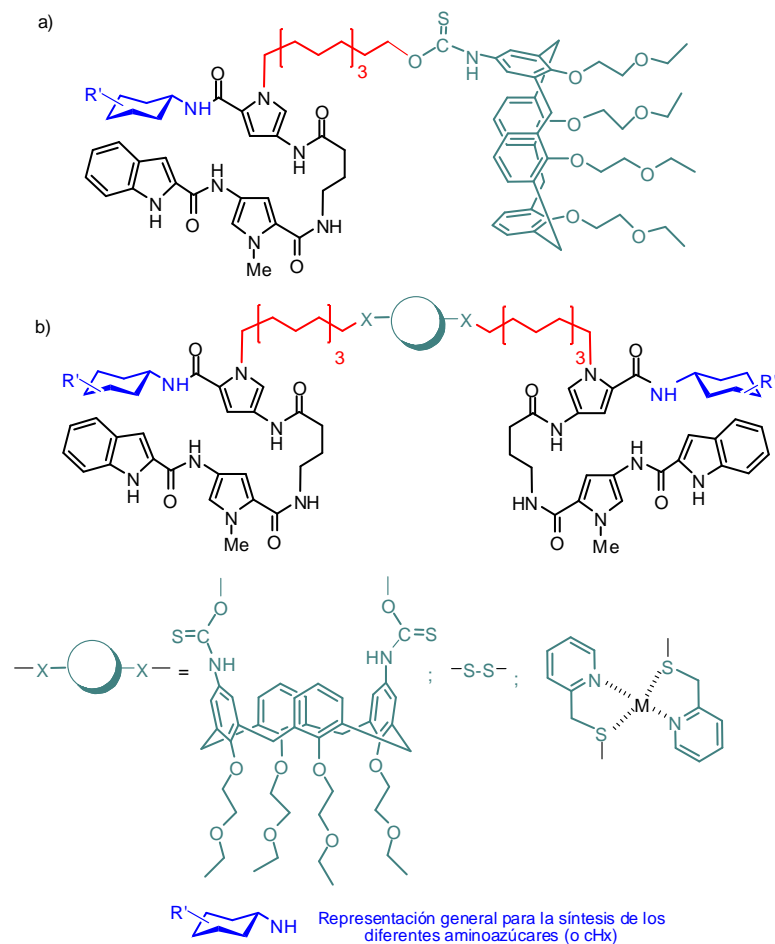


Figura 2.1.2. Glico-oligoamidas divalentes del ADN

Por un lado, se pretende obtener glico-oligoamidas divalentes empleando calix-[4]-arenos, bien como armazones moleculares^{3, 4} que mantienen unidas dos glico-oligoamidas generando un ligando divalente del surco menor del ADN (Figura 2.1.2.b); o bien, usando el calix-[4]-areno como un segundo centro de interacción con el ADN⁵ (Figura 2.1.2.a).

Por otro lado, se pretende obtener ligandos divalentes uniendo dos glico-oligoamidas mediante una cadena alquílica con un enlace disulfuro. Esto generaría un ligando divalente del surco menor del ADN (Figura 2.1.2.b).

También podrían obtenerse ligandos divalentes mediante la coordinación de metales de transición a la glico-oligoamida tipo II que contiene en el extremo alquílico una piridina.⁶ (Figura 2.1.2.b)

Por último, los dímeros con enlaces disulfuro son susceptibles de formar nanopartículas de oro que darían lugar a ligandos multivalentes.⁷ (Figura 2.1.3)

³ Los calixarenos han sido utilizados como armazones moleculares para la síntesis de ligandos multivalentes haciendo uso de su número variable de posiciones reactivas para la unión de distintos grupos funcionales: Baldini, L.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, *36*, 254-266;

⁴ Para ver ejemplos de carbohidratos unidos a calixarenos: a) Sansone, S.; Chierici, E.; Casnati, A.; Ungaro, R. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1802-1809. b) Sansone, F.; Baldini, L.; Casnati, A.; Ungaro, R. *Supramolecular Chemistry* **2008**, *29*, 161-168. c) Consoli, G. M. L.; Cunsolo, F.; Geraci, C.; Sgarlata, V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4163-4166. d) Dondoni, A.; Marra, A.; Scherrmann, M. C.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1774-1782 e) Roy, R.; Kim, J. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 369-372. f) Arosio, D.; Fontanella, M.; Baldini, L.; Mauri, L.; Bernardi, A.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3660-3661.

⁵ El grupo del Dr. Rocco Ungaro ha sintetizado una serie de calixarenos con grupos guanidinio y ha estudiado la interacción de estos con el ADN; viendo que estos calixarenos son capaces de condensar al ADN: a) Dudic, M.; Colombo, A.; Sansone, F.; Casnati, A.; Donofrio, G.; Ungaro, R. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 11613-11618. b) Sansone, F.; Dudic, M.; Donofrio, G.; Rivetti, C.; Baldini, L.; Casnati, A.; Cellai, S.; Ungaro, R.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14528-14536.

⁶ a) Eryazici, I.; Moorefield, C. N.; Newkome, G. R. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1834-1895. b) Canovese, L.; Chessa, G.; Visentin, F.; Uguagliati, P. *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 945-954. c) Tresoldi, G.; Baradello, L.; Lanza, S.; Cardiano, P. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 2423-2435. d) Bai, S.-Q.; Koh, L. L.; Hor, T. S. A. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1207-1213. e) García-Antón, J.; Pons, J.; Ros, J.; Solans, X.; Font-Bardia, M. *Acta Cryst.* **2004**, *E60*, m1087-m1089.

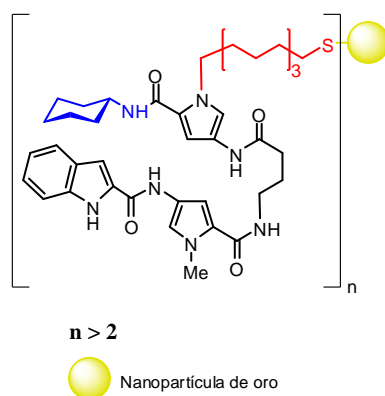


Figura 2.1.3. Ejemplo de nanopartícula de oro de glico-oligoamidas

En el esquema retrosintético 2.1.4. se muestra como se pueden sintetizar toda esta variedad de ligandos di y multivalentes.

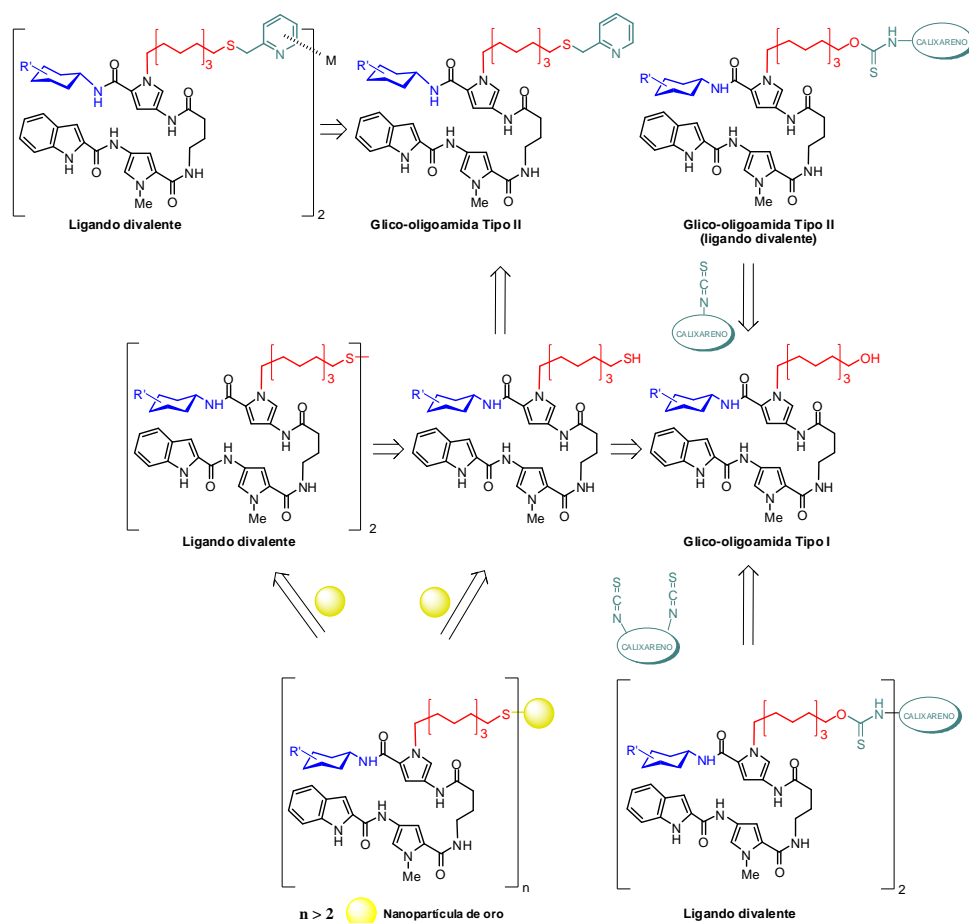
Por reacción del grupo hidroxilo del extremo de la cadena alquílica de las **glico-oligoamidas Tipo I** con diferentes tioisocianatos se obtienen las **glico-oligoamidas Tipo II** y los **ligandos divalentes** derivados de los calixarenos. (Esquema 2.1.4.)

El grupo tiol del extremo de la cadena alquílica se puede obtener a partir del grupo hidroxilo del extremo de la cadena alquílica de las **glico-oligoamidas Tipo I**. También puede obtenerse por desprotección del grupo $-\text{CH}_2\text{py}$ de las glico-oligoamidas tipo II, **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind.** (Esquema 2.1.4.)

A partir de grupo tiol se puede formar el enlace disulfuro. (Esquema 2.1.4.)

⁷ Las gliconanopartículas de oro se han usado como sistemas multivalentes desde 2001 para abordar interacciones como por ejemplo la interacción carbohidrato-carbohidrato: a) de la Fuente, J. M.; Barrientos, A. G.; Rojas, T. C.; Rojo, J.; Cañada, J.; Fernández, A.; Penadés, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2257-2261; b) de la Fuente, J. M.; Penadés, S. *Glycoconjugate J.* **2004**, *21*, 149-163.

También a partir de **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁SH]-γ-Py(A)-Ind** ó **[Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁S⁻]-γ-Py(A)-Ind]₂** podrían obtenerse **nanopartículas de oro** (ligandos multivalentes).^{8, 9} (Esquema 2.1.4.)



⁸ Para ver ejemplos de formación de nanopartículas a partir de tioles ó enlaces disulfuro ver ref 7.

⁹ La preparación de nanopartículas de oro se desarrollará en el marco de una colaboración entre el grupo de la Dra. Cristina Vicent y el de la Dra. Soledad Penadés en el Instituto CIC biomaGUNE.

Esquema 2.1.4. Esquema retrosintético para la preparación de glico-oligoamidas **Tipo II**, **glico-oligoamidas di** y **multivalentes**.

Con la metodología general desarrollada se pretende tener acceso a cualquier tipo de **glico-oligoamida mono, di o multivalente**, con objeto de obtener diferentes familias de glico-oligoamidas con diversos carbohidratos (o derivados) y estudiar su interacción con el ADN.

2.2. PREPARACIÓN DE LAS GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II POR LA RUTA C (Azúcar-NH₂ + HO-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γ-Py(A)-Ind)

Se ha sintetizado una serie de **glico-oligoamidas Tipo II** en las que la segunda unidad de interacción está unida a la cadena alquílica por medio de un enlace tioéter.¹⁰ (Figura 2.2.1.)

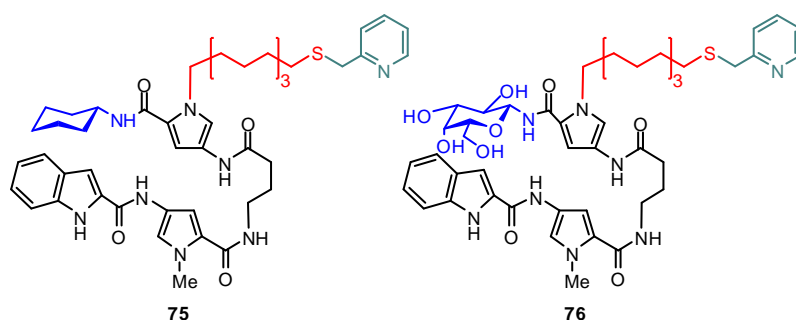


Figura 2.2.1. Glico-oligoamidas Tipo II con un segundo grupo funcional (CH₂py) unido a la cadena alquílica mediante un enlace tioéter: **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** y **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (76)**

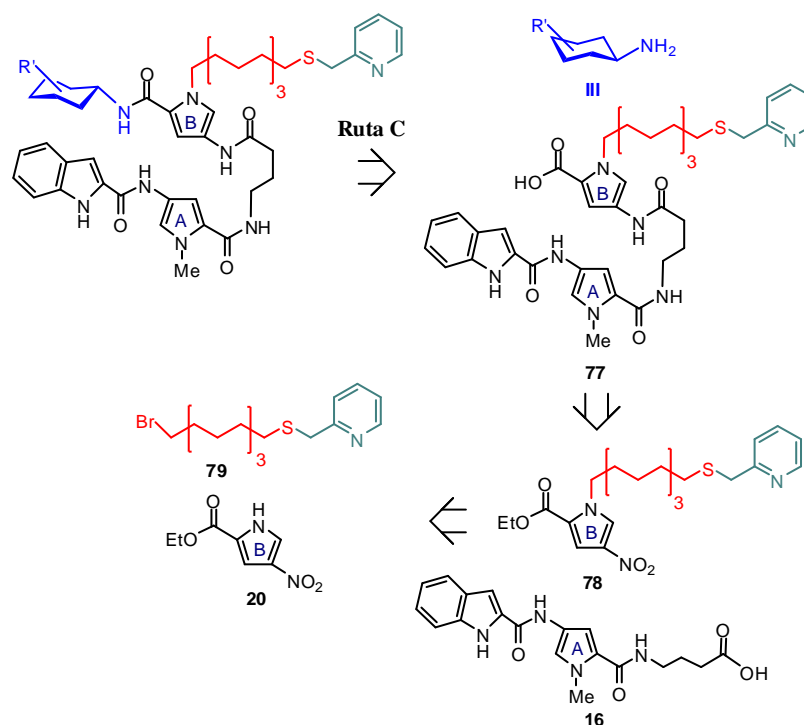
Se ha seleccionado como azúcar constituyente de estas glico-oligoamidas Tipo II la galactosa. Esta elección se debe a que estudios de interacción realizados en nuestro laboratorio con las glico-oligoamidas derivadas del vector A, de estructura general **Azúcar-Py(B)-γ-Py(A)-Ind**, han demostrado que el ligando más selectivo de secuencias ricas en pares de bases **AT** es **β-Gal-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.e)**.¹¹

¹⁰ Estas moléculas han sido sintetizadas con el objetivo de obtener ligandos divalentes de las glico-oligoamidas así como para la preparación de nanopartículas del oro.

¹¹ Peñalver, P.; Samadi, A.; Bosch, P.; Hunter, C. A.; Vicent, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2220-2231.

Por otro lado, se ha seleccionado también el derivado de ciclohexilo, **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75) como modelo de estas glico-oligoamida tipo II sin carbohidrato.**

Estos compuestos han sido preparados por la **Ruta C: Azúcar-NH₂** (o **cHx-NH₂** (51)) + **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (77)**. (Esquema 2.2.1.)

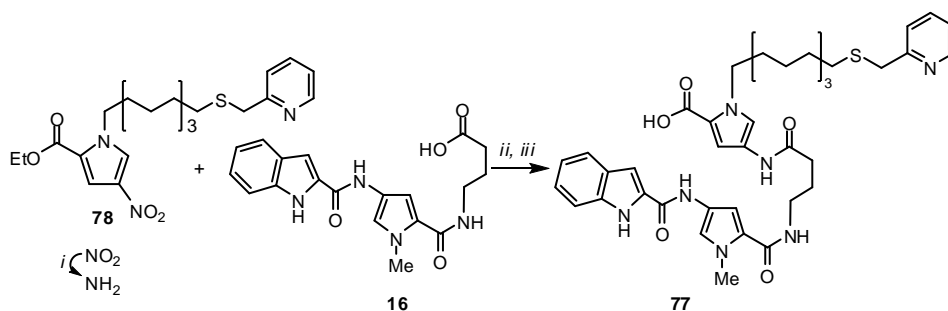


Esquema 2.2.1. Esquema retrosintético para la preparación de glico-oligoamidas **Tipo II** preparadas por la **Ruta C: Azúcar-NH₂** + **HO-Py(B)[(CH₂)_nSpy]- γ -Py(A)-Ind (77)**. **III**: **cHx-NH₂** (51), (AcO)₄- β -Gal-NH₂ (39).

Las glico-oligoamidas **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** y **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (76)** se preparan mediante la reacción del éster activado del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)** con las aminas correspondientes, **cHx-NH₂ (51)** y **(AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39)** para formar el enlace amidoglicosídico. (Esquema 2.2.1.)

2.2.1. Preparación del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)**

La preparación del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)** se llevó a cabo de manera análoga a la preparación de los ácidos **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**, **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (34)** y **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (35)** (Figura 1.2.4.1.) mediante una secuencia de tres etapas a partir del ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** y del pirrol **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)**¹². (Esquema 2.2.1.1.)



Clave: i) NiCl₂·6H₂O/NaBH₄; ii) DIPC, HOBt, DMF; iii) LiOH·H₂O, dioxano, H₂O

Esquema 2.2.1.1. Esquema para la preparación del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)**

¹² Para la preparación del pirrol **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)** ver la parte experimental. Sección: 2.1.2. Preparación de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)**. Éste se preparó de manera análoga a los nitropirroles **18** y **19**, con un rendimiento del 32%.

La primera etapa de la secuencia consistió en la reducción del grupo nitro del pirrol **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)** a amina empleando NiCl₂·6H₂O/NaBH₄ en etanol¹³. La amina correspondiente, **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NH₂**, se empleó tras eliminación del disolvente, sin posterior purificación en la siguiente etapa.

La segunda etapa implica el acoplamiento *in situ* de la amina correspondiente y el ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** empleando HOBt/DIPC como activantes en DMF. Tras aislamiento y purificación se obtuvo el éster **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (80)** como un sólido con un rendimiento del 30%.

La tercera etapa de la secuencia consistió en la hidrólisis del grupo éster de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (80)** a su correspondiente ácido. Ésta se realizó empleando LiOH·H₂O en una mezcla dioxano/H₂O (1/1) a t. a. Tras aislamiento y purificación se obtuvo el ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)** como un sólido blanco con un rendimiento del 93%.

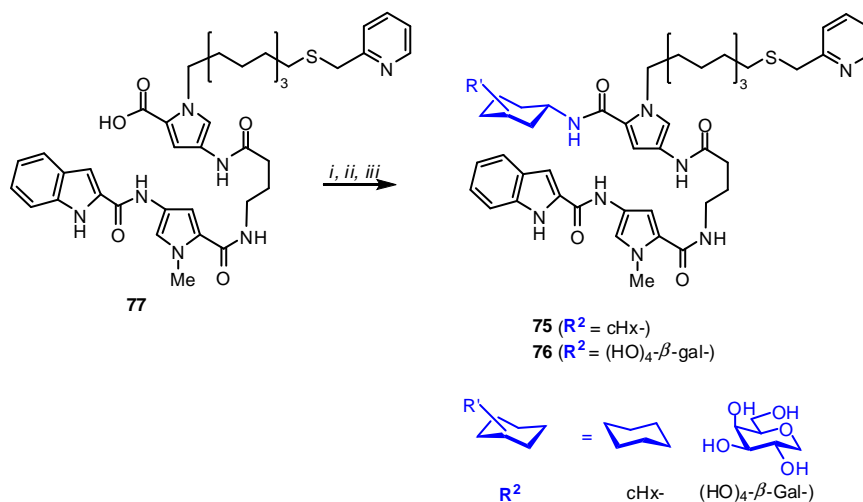
El rendimiento global de las dos etapas para la obtención de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)** a partir del ácido **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** y del pirrol **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)** fue del 28%.

2.2.2. Preparación de los compuestos **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** y **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (76)**

La preparación de los compuestos **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** y **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (76)** a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)** se llevó a cabo mediante la misma

¹³ Nose, A.; Kudo, T.; *Chem. Pharm. Bull.*; **1988**, 36, 1529-1533.

secuencia de etapas¹⁴ que para la preparación de los compuestos de fórmula general **Azúcar-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**, (**1.b, c, e, g y i**). (Esquema 2.2.2.1.)



Clave: *i*) TFFH, HOBt (ó HOAt), DIEA, DMF *ii*) cHx-NH₂ (**51**) o (AcO)₄- β -Gal-NH₂ (**39**), DIEA, DMF *iii*)¹⁵ MeONa, MeOH

Esquema 2.2.2.1. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** y **(HO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (76)** a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (77)**

La primera etapa de la secuencia consistió en la reacción del ácido **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (77)** con TFFH (**43**) y HOBt en DMF, en presencia de DIEA. Tras aislamiento y purificación se obtuvo el éster activado

¹⁴ Ver sección: **1.2.6. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I**

¹⁵ Sólo en el caso de la preparación del compuesto **(HO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (76)**

BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (81) como un sólido con un rendimiento del 60%.¹⁶

La reacción del éster **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (81)**¹⁷ con las aminas (**AcO**)₄- β -Gal-NH₂ (**39**) o **cHx-NH₂ (51)** y DIEA en DMF condujo, tras aislamiento y purificación, a las glico-oligoamidas (**AcO**)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (**83.e**) y **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** como sólidos, con rendimientos del 30 y del 45% respectivamente.

En el caso de galactosa, durante la reacción de acoplamiento se produce anomerización, obteniéndose una mezcla de anómeros (**AcO**)₄- α/β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (**83.d/83.e**) ($\alpha/\beta = 1/5$)¹⁸. Tras purificación cromatográfica en AcOEt se aisló el anómero β puro.

El tratamiento de (**AcO**)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (**83.e**) con MeONa en metanol¹⁹ condujo al compuesto (**HO**)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (**76**).²⁰

Como conclusión, se han obtenido los compuestos **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** y **(HO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (76)** mediante la **Ruta C**. Los rendimientos globales para la obtención de ambos a partir del ácido **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** son del 8 y del 4% respectivamente.

¹⁶ Cuando se emplea HOAt en lugar de HOBt se obtiene el éster activado **AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (82)** con un rendimiento del 52 %.

¹⁷ También se ha llevado a cabo la reacción con su análogo **AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (82)**.

¹⁸ Relación α/β determinada a partir del crudo de reacción en base a ¹H-RMN.

¹⁹ Hong, F.; Fan, E. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 6073-6076.

²⁰ A pesar de las cantidades de compuesto manejadas (10 mg de **83.e**), tras purificación por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1) se pudo realizar la asignación estructural del mismo por RMN. Los datos espectroscópicos se dan en la parte experimental. Sección: 2.1.9. Preparación de **(HO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (76)**

Los ensayos de desprotección realizados del compuesto **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** para obtener el correspondiente tiol²¹ o bien el correspondiente disulfuro S-S.²¹ no han conducido a los resultados deseados.^{22, 23}

2.2.3. Estudio conformacional de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)**

A continuación pasaremos a describir la conformación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en dos disolventes orgánicos: acetona-d₆ y DMSO-d₆.

Al igual que el estudio conformacional realizado de **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.c)**²⁴, estos estudios están encaminados a aportar información sobre la conformación de estructuras derivadas de lo que hemos denominado **vector B (-NH-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind)**.

a) En acetona-d₆:

Inicialmente, se realizó la asignación completa del espectro de ¹H-RMN de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆, haciendo uso de

²¹ Para ver métodos generales para la obtención de tioles, SH, y enlaces disulfuro, S-S, ver: Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic Synthesis*; Wiley-Interscience: New York, 3ª Ed., 1999 pg 277-308. (Recientemente ha sido publicada una cuarta edición de dicha obra (2007)).

²² Tras el tratamiento de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** con CuCl₂·2H₂O en una mezcla DMF/H₂O a t. a. se recuperó el producto de partida inalterado: Yoshizawa, H.; Otaka, A.; Habashita, H.; Fujii, N. *Chem. Lett.* **1993**, 22, 803-806.

²³ Como alternativa se empleó Cu(BF₄)xH₂O en una mezcla DMF/H₂O. La reacción se llevó a cabo tanto a t. a. como a reflujo. En este caso, ni los resultados de RMN ni los de espectrometría de masas fueron concluyentes y no se consiguió aislar el producto deseado.

²⁴ Capítulo 1, Sección 1.2.8. Estudio conformacional de **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.c)**.

experimentos COSY, 2D TOCSY ($T_m = 60$ ms), NOESY ($T_m = 400$ ms), ROESY ($T_m = 400$ ms), HSQC y HMBC. En la figura 2.2.3.1. se muestran las resonancias de ^1H -RMN de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆.

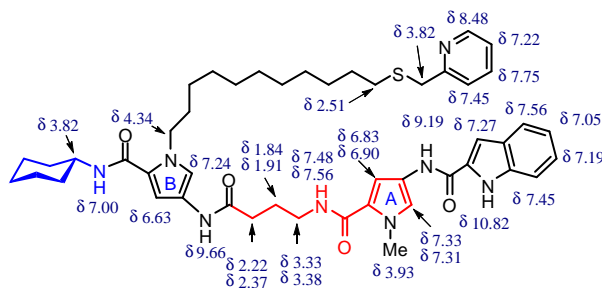


Figura 2.2.3.1. Resonancias de ^1H -RMN de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆. En rojo se señala el fragmento de la molécula en el que las resonancias de protón aparecen desdobladas.

Un aspecto interesante del espectro de ^1H -RMN en acetona-d₆ de este derivado, no observado en ningún otro, es que las resonancias correspondientes a los protones del pirrol A, H-3 y H-5, el NH-3 (figura 2.2.3.2. y figura 2.2.3.3.) y las resonancias de todos los protones asignados al derivado del ácido aminobutírico (figura 2.2.3.4.) aparecen desdobladas.²⁵

²⁵ Las masas obtenidas por ionización química por electroespray (*API-ES*) en modo positivo fueron asignadas inequívocamente al compuesto **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)**. Así mismo, una única mancha fue observada por TLC en todos los elutentes empleados. (AcOEt (100%); hexano: acetona (1:2)).

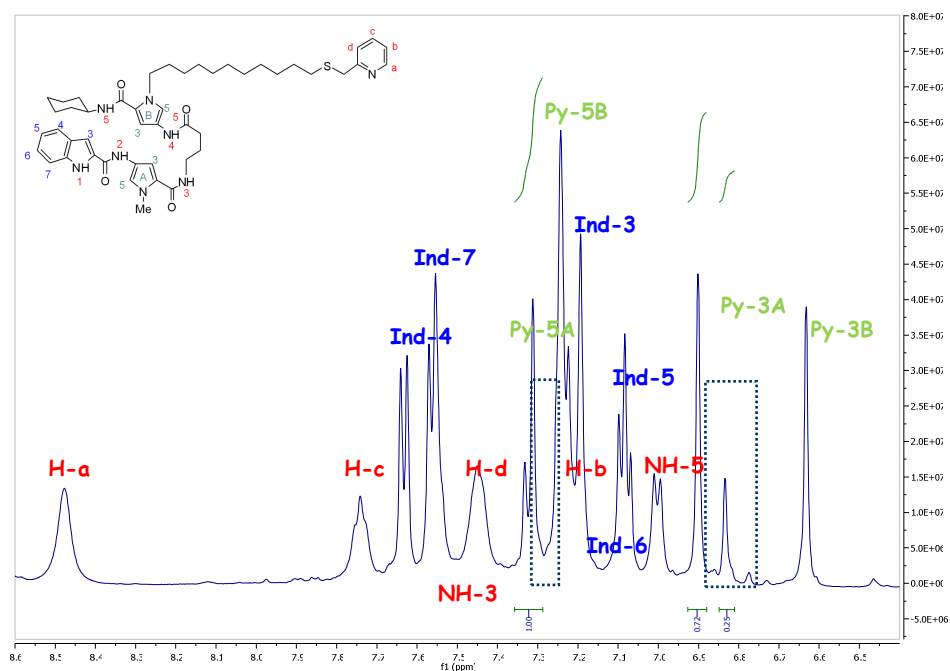


Figura 2.2.3.2. Resonancias de ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)** $[(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (75)}$ en acetona- d_6 . ($c=15\text{mg}/0.6\text{ml}$) Ampliación de la zona aromática (8.6-6.4 ppm). En un recuadro se marcan las señales dobles.

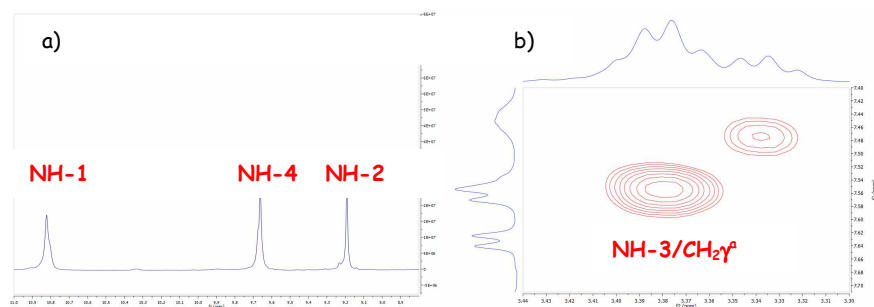


Figura 2.2.3.3. a) Resonancias de ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)** $[(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (75)}$ en acetona- d_6 . ($c = 15\text{mg}/0.6\text{ml}$) Ampliación de la zona aromática (8.8-11.0 ppm) b) NOESY (500MHz, 298K, 400 ms) Ampliación nOe $\text{NH-3}/\text{CH}_2\gamma^a$

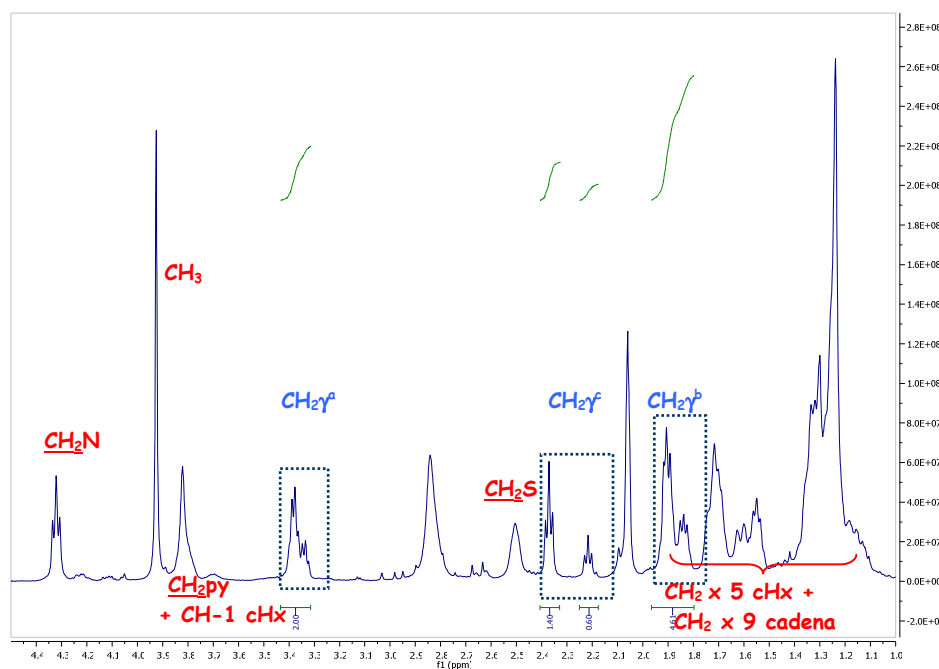


Figura 2.2.3.4. ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)** $[(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}]\text{-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (75) en acetona- d_6 . Ampliación 1.00-4.50 ppm. En un recuadro se marcan las señales dobles.

Una explicación a la aparición de señales desdobladas podría ser la formación de dímeros o agregados en disolución. Otra podría ser asociada a la existencia de dos conformeros en disolución. La posibilidad de giro en torno a los enlaces C-N y C-C de los grupos amido y de la cadena γ hace que estas moléculas sean flexibles. Por ello, es de esperar que, en disolución, presenten un equilibrio conformacional en que participaría un determinado número de conformaciones tanto plegadas como abiertas.

Se realizó un estudio de dilución para ver si el desdoblamiento de las señales era debido a la existencia de dímeros o agregados en disolución.

Para ello, se registraron dos espectros de ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆ a $c = 30 \text{ mM}$ y $c = 2 \text{ mM}$.

Se puede observar que el desdoblamiento de las resonancias correspondientes a los protones H-3 y H-5 del Py-A (figura 2.2.3.5.) y las resonancias de todos los protones del derivado del ácido aminobutírico (figura 2.2.3.6.) se da también a bajas concentraciones ($c = 2 \text{ mM}$) por lo que se descartó la existencia de dímeros o agregados en disolución.

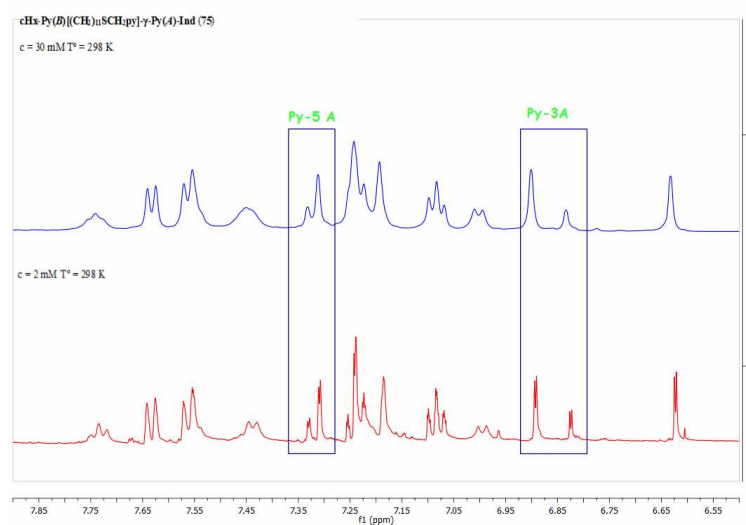


Figura 2.2.3.5. ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆ a $c = 30 \text{ mM}$ y $c = 2 \text{ mM}$. Ampliación 6.50-7.90 ppm. En un recuadro se marcan las señales dobles.

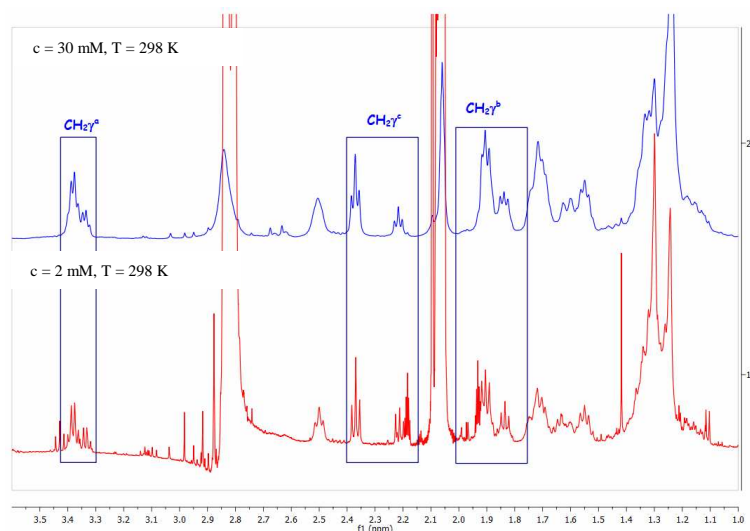


Figura 2.2.3.6. ¹H-RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆ a c = 30 mM y c = 2 mM. Ampliación 1.00-3.60 ppm. En un recuadro se marcan las señales dobles.

Se realizó también un estudio de temperatura variable. En la figura 2.2.3.7. se muestra la ampliación entre 6.50-7.90 ppm. ¹H-RMN (500MHz) de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆ a c = 2 mM a distintas temperaturas (20-40 °C).

Se observa que las resonancias correspondientes a los protones H-3 y H-5 del pirrol A, así como las de todos los protones del derivado del ácido aminobutírico no cambian de posición ni de intensidad.

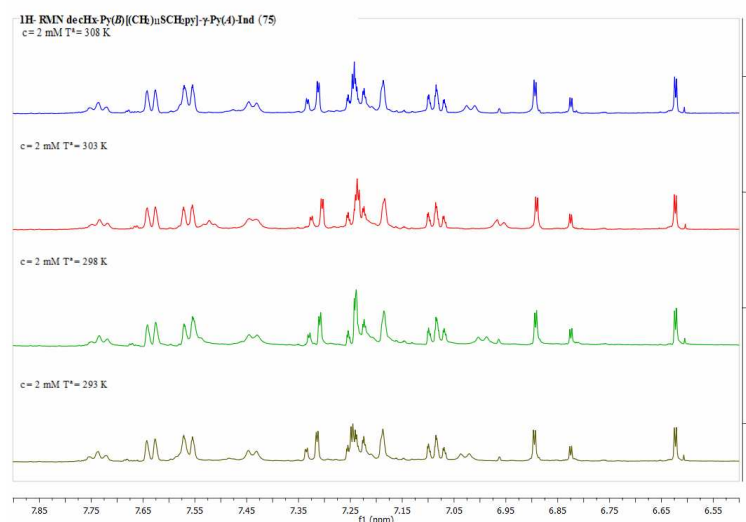


Figura 2.2.3.7. ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆ a c = 2 mM a distintas temperaturas (293-308 K). Ampliación 6.50-7.90 ppm.

A partir de los espectros 2D-NOESY y 2D-ROESY se ha obtenido información sobre la disposición de la cadena, el anillo de piridina y el fragmento de glico-oligoamida.

En el espectro 2D-NOESY y 2D-ROESY en acetona-d₆ de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** se han detectado nOes intra-hebra entre las resonancias de los protones amídicos y las resonancias de los protones en posición 3 de los anillos aromáticos que caracterizan la forma arqueada de estas moléculas.

Sin embargo, no se detectaron los nOes inter-hebra característicos de la estructura plegada (ni entre las resonancias de los pirroles A y B ni entre las resonancias los del cHx- y el indol) por lo que podría proponerse que las conformaciones mayoritarias en disolución de acetona-d₆ son lineales.

Tampoco se detectaron nOe's entre el residuo de piridina y el resto de la glico-oligoamida, por lo que se propone que los dos fragmentos de la molécula están alejados en el espacio.

En la figura 2.2.3.8. se muestra un esquema con los nOe's observados en los espectros 2D-NOESY y 2D-ROESY de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆.

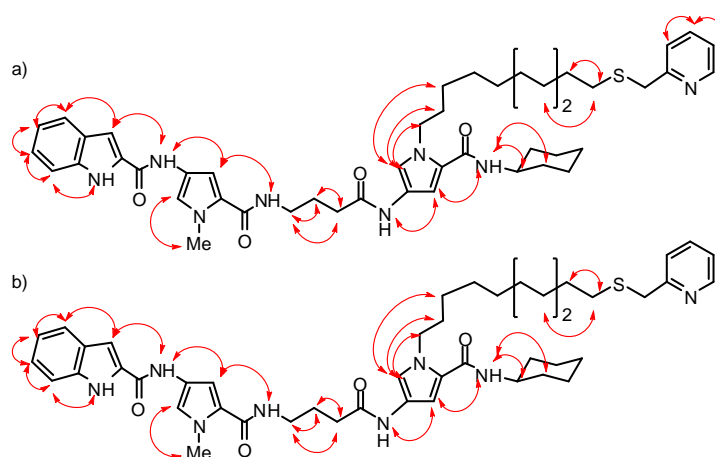


Figura 2.2.3.8. nOe's observados en los espectros a) NOESY y b) ROESY de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en acetona-d₆

b) En DMSO-d₆:

Debido a la posible existencia de varios conformeros en disolución de acetona-d₆, se consideró de interés registrar el espectro de ¹H-RMN en DMSO-d₆ para comprobar la influencia del disolvente. Además, se realizó la asignación completa del espectro de ¹H-RMN de **75** en DMSO-d₆, haciendo uso de experimentos COSY, 2D-TOCSY (60 ms), NOESY (400ms), HSQC y HMBC.

En la figura 2.2.3.9. se muestran las resonancias de ¹H-RMN de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)** en DMSO-d₆.

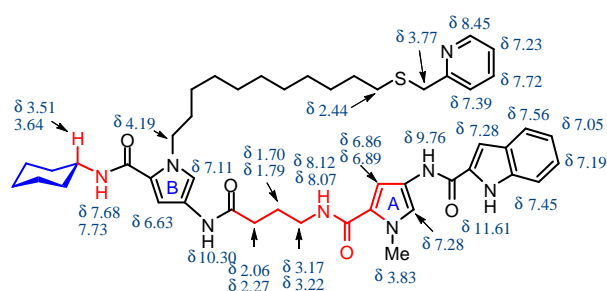


Figura 2.2.3.9. Resonancias de ^1H -RMN (500Mz, 298K) de **cHx-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$]- γ -Py(A)-Ind (75).** En rojo se señala el fragmento de la molécula en el que las resonancias de protón aparecen desdobladas en DMSO-d_6

En el espectro de ^1H -RMN (500MHz, 298K) en DMSO-d_6 se muestra la asignación de la zona aromática de **cHx-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$]- γ -Py(A)-Ind (75)**. (Figura 2.2.3.10. y Figura 2.2.3.11.) Cabe destacar que en este caso también aparecen dobles las señales asignadas a Py-3A, NH-3 y NH-5, las cuales corresponden a los dos conformeros en una proporción aproximada de 1:1. (Figura 2.2.3.10)

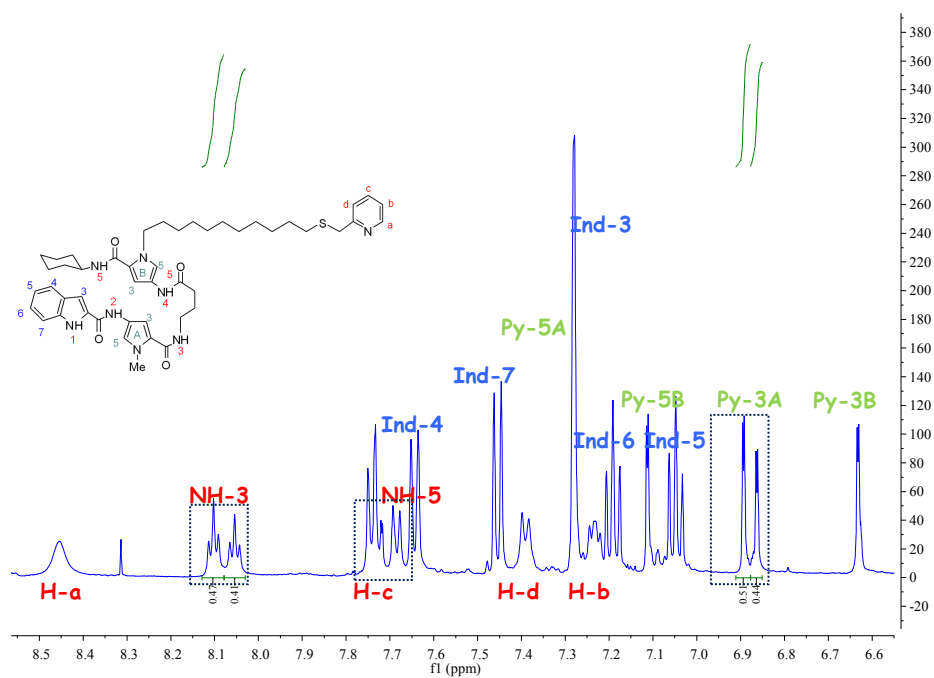


Figura 2.2.3.10. ^1H -RMN (500MHz, 298K) de $\text{cHx-Py(B)[}(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py]}-\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (75) en DMSO-d_6 . Ampliación de la zona aromática entre 8.55-6.55 ppm. En un recuadro se marcan las señales dobles.

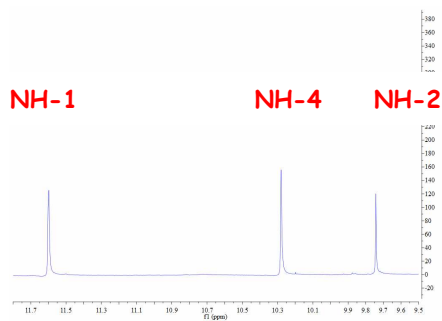


Figura 2.2.3.11. ^1H -RMN (500MHz, 298K) de $\text{cHx-Py(B)[}(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py]}-\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (75) en DMSO-d_6 . Ampliación de la zona aromática entre 9.50-11.80 ppm.

También aparecen desdobladas las resonancias correspondientes a los protones del residuo del ácido aminobutírico (γ) y la resonancia correspondiente al proton del C-1 del cHx. (Figura 2.2.3.12.)

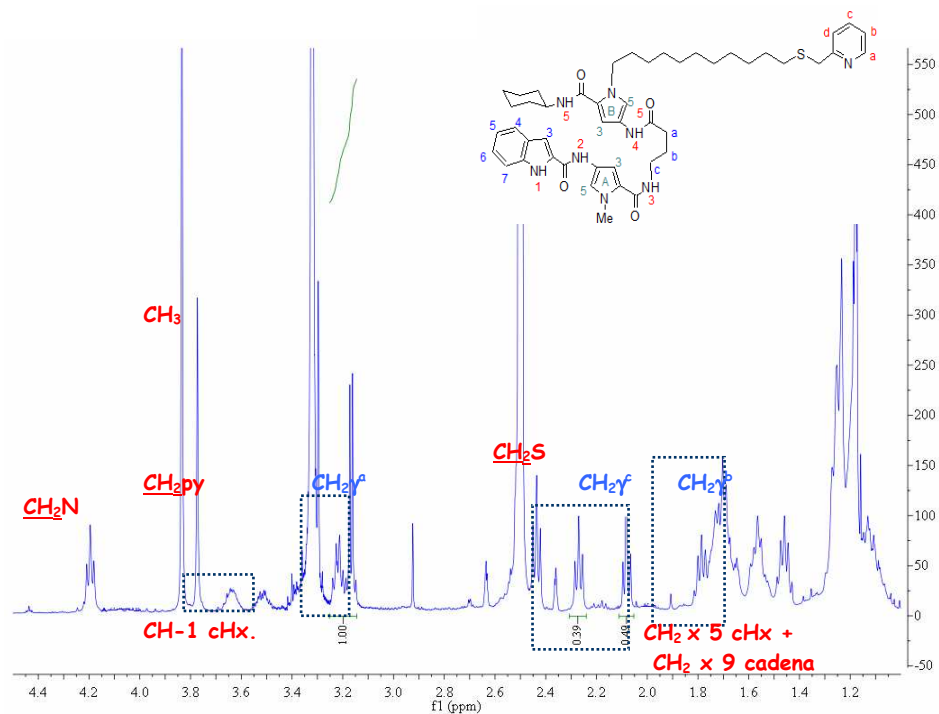


Figura 2.2.3.12. ^1H -RMN (500MHz, 298K) de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en DMSO- d_6 . Ampliación de la zona 1.00-4.30 ppm. En un recuadro se marcan las señales dobles.

El hecho de observar señales dobles es indicativo de que en este disolvente también existen varios conformeros en disolución.

A partir del espectro 2D-NOESY en DMSO- d_6 se ha obtenido información sobre la disposición de la cadena, el anillo de piridina y el fragmento de glico-oligoamida.

Se han detectado nOes intra-hebra entre las resonancias de los protones amídicos y las resonancias de los protones en posición 3 de los anillos aromáticos que caracterizan la forma arqueada de estas moléculas. Sin embargo, no se detectaron nOes inter-hebra entre las resonancias de los protones de los pirroles A y B ni entre las resonancias de los protones del cHx y el indol que serían indicativos de la presencia de la conformación en horquilla.

Respecto al anillo de piridina, en el espectro 2D-NOESY se observaron señales nOe entre las resonancias de los protones H-a/H-b, H-b/H-c y H-c/H-d. No se observaron nOe's entre el anillo de piridina y el resto de la glico-oligoamida.

En la figura 2.2.3.13. se representan los nOes observados en el espectro 2D-NOESY de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en DMSO- d_6 .

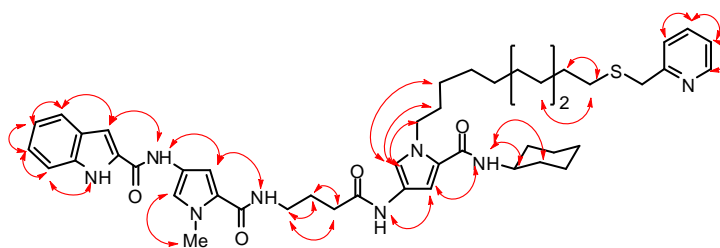


Figura 2.2.3.13. nOe's observados en el espectro NOESY de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en DMSO- d_6

Tras el análisis de los espectros ¹H-RMN, COSY, 2D-TOCSY, 2D-NOESY, 2D-ROESY, HSQC y HMBC en acetona- d_6 y DMSO- d_6 se puede concluir:

✓ Se ha observado el desdoblamiento de algunas señales tanto en acetona- d_6 (las resonancias de Py-3A, Py-5A, NH-3 y del fragmento del ácido aminobutírico (γ)) como en DMSO- d_6 (las resonancias de Py-3A, NH-3, NH-5 y del fragmento del ácido aminobutírico (γ), y de H-1 del cHx).

✓ Las proporciones de los conformeros encontradas tanto en acetona- d_6 como en DMSO- d_6 son diferentes (2.3:1 en acetona- d_6 y 1:1 en DMSO- d_6 aproximadamente) por lo que se concluye que el cambio conformacional es dependiente del disolvente.

✓ Los espectros de ^1H -RMN (500MHz, 298K) a distintas concentraciones de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (75)** en acetona- d_6 no muestran diferencias, por lo que se descartó la formación de dímeros o agregados. Por tanto, se propone que el desdoblamiento podría ser debido a la presencia de varios conformeros en disolución en el fragmento de **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**.

✓ No se ha observado ni en el espectro 2D-NOESY ni en el 2D-ROESY la existencia de nOes que indiquen la presencia de conformación plegada en disolución en estos disolventes en el fragmento de **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**.²⁶ Esto parece indicar que las conformaciones mayoritarias son lineales o abiertas. (Figura 2.2.3.14)

✓ No se han observado ni en el espectro 2D-NOESY ni en el 2D-ROESY la existencia de nOes entre el anillo de piridina y la glico-oligoamida. Esto parece indicar que, ambos fragmentos de la molécula están alejados en el espacio en disolución. (Figura 2.2.3.14) Este resultado es importante desde un punto de vista del diseño de este tipo de ligandos de tipo vector B, dado que lo que se pretende es que la cadena alquílica, posición a la que va a unirse el segundo centro de interacción, esté alejada de la zona del compuesto que contiene el primer centro

²⁶ El plegamiento vendría definido por la existencia de nOe entre las resonancias de los protones del cHx/indol o entre las resonancias de los protones de pirrol A/pirrol B.

de interacción (**cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**) para evitar interferir en la unión del mismo al ADN.

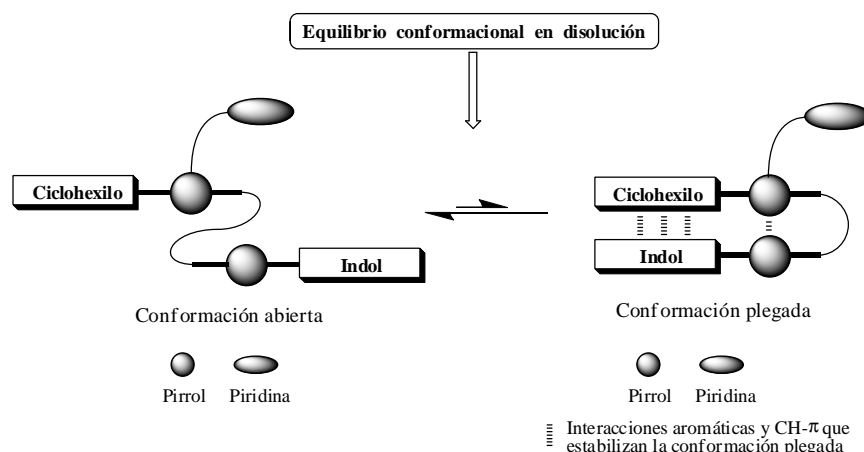


Figura 2.2.3.14: Esquema del equilibrio conformacional en disolución de DMSO- d_6 y acetona- d_6 de **cHx-Py(B)[$(CH_2)_{11}SCH_2py$]- γ -Py(A)-Ind (75)**

Así podemos concluir que estas **glico-oligoamidas Tipo II** tienen en disolución en acetona- d_6 y DMSO- d_6 una conformación caracterizada por la lejanía entre la glico-oligoamida y la piridina.

La segunda característica es que las conformaciones mayoritarias en el fragmento de oligoamida son abiertas en disolventes orgánicos. Esto es lo contrario a lo que ocurre en las glico-oligoamidas con estructura general de **vector A, -NH-Py(B)- γ -Py(A)-Ind** en D_2O , aunque este cambio conformacional puede ser debido al cambio de disolvente.²⁷

²⁷ Hay que tener en cuenta que la conformación de las glico-oligoamidas tipo vector I se ha estudiado sólo en D_2O y H_2O (tampón fosfato).

2.3. PREPARACIÓN DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II POR LA RUTA D: (Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nXH]-γ-Py(A)-Ind (glico-oligoamida Tipo I) + R-O (O = representación general para el segundo centro de interacción))

En el grupo de investigación de la Dra. Cristina Vicent se ha comenzado a preparar glico-oligoamidas mono y divalentes empleando calixarenos. En concreto, se están usando como derivados de calixarenos los *p*-mono- y *p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-arenos **85** y **86**.²⁸ La investigación se realiza en el contexto de un proyecto conjunto con el grupo de investigación del Dr. Rocco Ungaro sobre las bases del Proyecto Europeo HPRPN-CT-2002-00190 “Carbohydrate based ligands for nucleic acids recognition” (CARBONA). (Figura 2.3.1.)

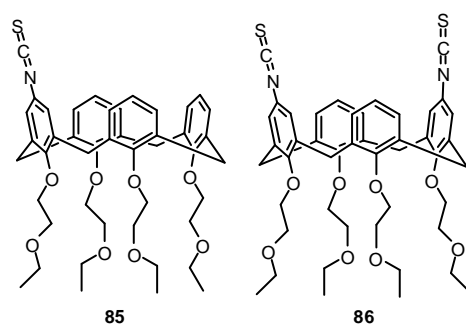


Figura 2.3.1. *p*-Mono y *p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-arenos **85 y **86****

²⁸ Los calixarenos empleados fueron suministrados por el Dr. Rocco Ungaro en la Universidad de Parma.

En esta Tesis se presenta la síntesis de los compuestos **84.a-c** y **e** a partir de **β -Xyl-Py(B)[(CH₁₁)OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** y **β -Gal-Py(B)[(CH₁₁)OH]- γ -Py(A)-Ind (2.e)**, así como de su modelo, el **cHx-Py(B)[(CH₁₁)OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)** con los calix-[4]-arenos **85** y **86**. (Figura 2.3.2.)

Se han elegido los derivados de galactosa, **2.e**, y de xilosa, **2.c**, para ser modificados con los calix-[4]-arenos **85** y **86**. Esta elección se debe a los resultados obtenidos en los estudios de interacción realizados con las glico-oligoamidas tipo vector A, de estructura general **Azúcar-Py(B)- γ -Py(A)-Ind**, y los polímeros de ADN (*ct*-ADN, *poly*(dA-dT) y *ml*-ADN). El derivado de galactosa, **β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.e)**, resultó ser el más selectivo de *poly*(dA-dT) y el derivado de xilosa, **β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)**, el menos selectivo de la misma secuencia.¹¹

Se han sintetizado una serie de **glico-oligoamidas Tipo II**, cuyo segundo centro de interacción es un derivado de calix-[4]-areno (Figura 2.3.2.), por la **Ruta D (Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind + SCN-calix-[4]-areno)**.

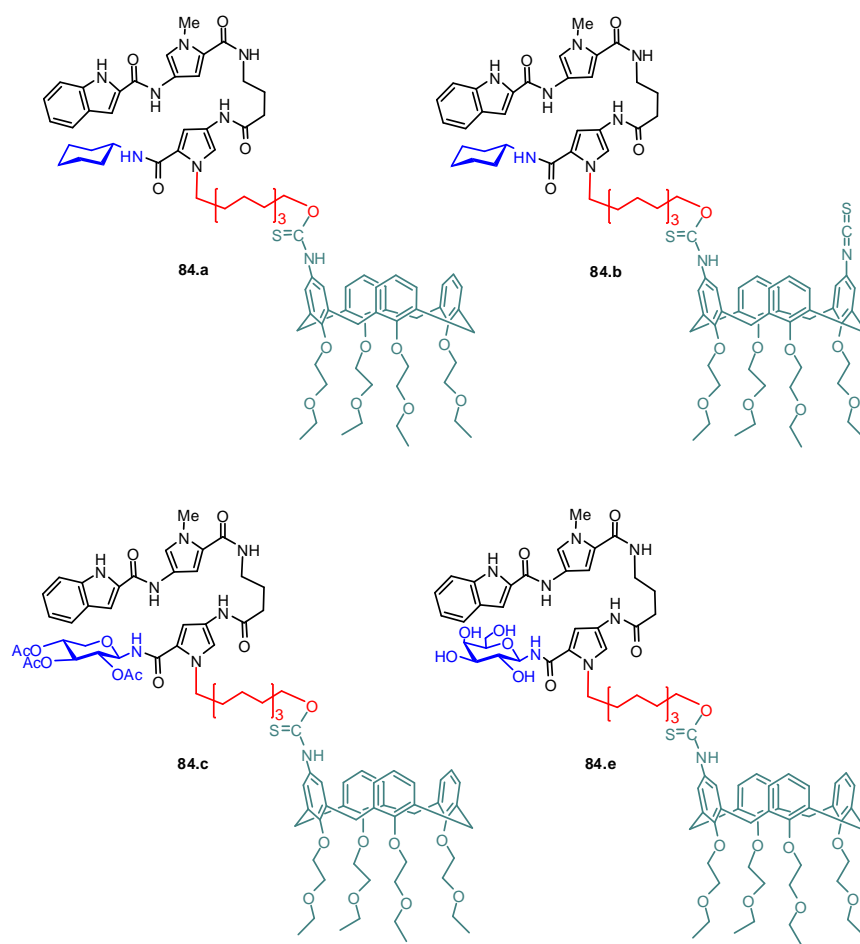
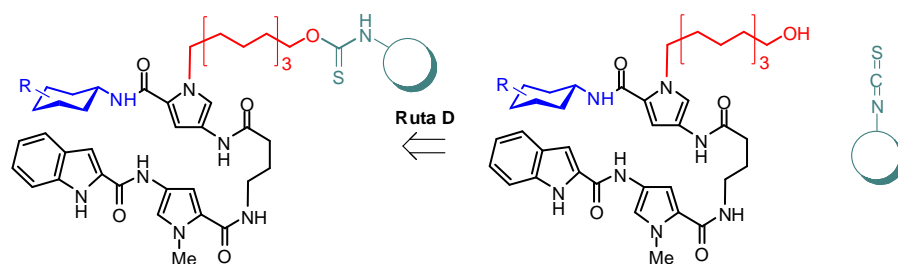


Figura 2.3.2. Glico-oligoamidas Tipo II unidas a calix-[4]-arenos (compuestos **84.a-c y **84.e**)**

Los compuestos **84.a-c** y **84.e** se han preparado a partir de las correspondientes **glico-oligoamidas Tipo I** (**2.a**, **60.c** y **60.e**), por reacción del hidroxilo del extremo de la cadena de éstas con diferentes tioisocianatos por la Ruta D. De esta manera, el segundo centro de interacción está unido a la cadena alquílica por medio de un grupo tiocarbamato. (Esquema 2.3.1.)



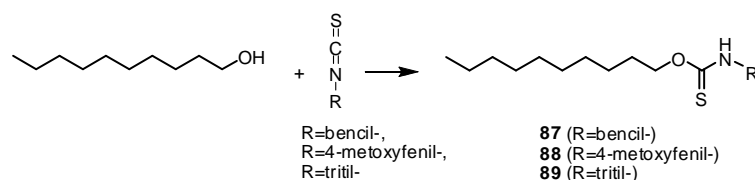
Esquema 2.3.1. Esquema retrosintético para la preparación de **glico-oligoamidas Tipo II** preparadas por la **Ruta D** a partir de **glico-oligoamidas Tipo I**.

2.3.1. Estudio de reactividad entre diferentes alcoholes alquílicos y tioisocianatos. Preparación de los modelos sintéticos.

Debido a que las cantidades de los calix-[4]-arenos que nos suministraron eran limitadas,²⁹ previamente se realizaron una serie de estudios de reactividad con modelos sintéticos con objeto de conocer las mejores condiciones para la obtención de los tiocarbamatos. Estos estudios previos consistieron en analizar dos conjuntos de reacciones:

A. El compuesto comercial **1-decanol** se hizo reaccionar con diferentes tioisocianatos comerciales: **tioisocianato de bencilo**, **tioisocianato de *p*-metoxifenilo** y **tioisocianato de tritilo**. (Esquema 2.3.1.1)

²⁹ Las cantidades totales suministradas de ***p*-monotioisocianato-calix-[4]-areno 85** y de ***p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-areno 86** fueron de 70 y 30 mg respectivamente.

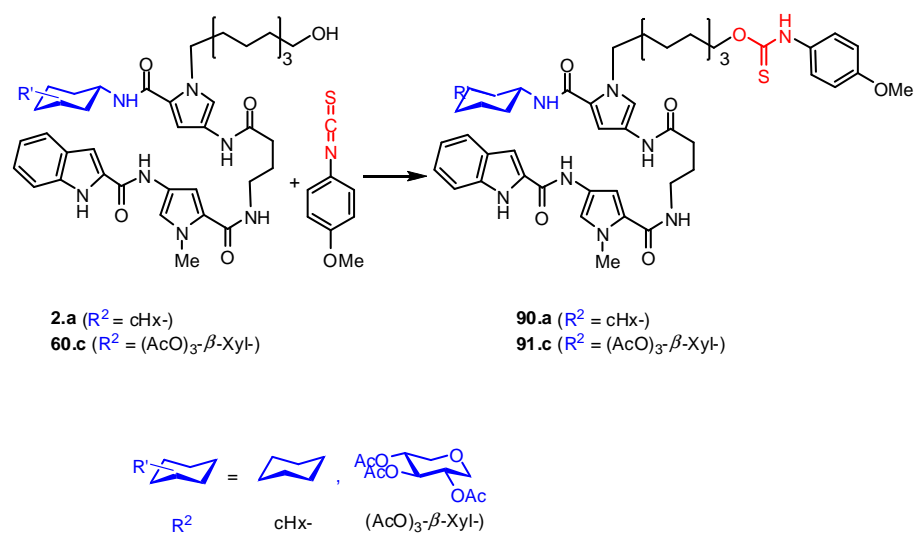


Esquema 2.3.1.1. Reacción entre el decanol y distintos tioisocianatos.³⁰

Se eligieron estos tioisocianatos con el objetivo de ver el efecto estérico de los sustituyentes. Así los **tioisocianatos** de **bencilo** y de **tritol** son los modelos sintéticos menos y más impedidos respectivamente. Por otra parte, el **tioisocianato** de ***p*-metoxifenilo** se usó como modelo de una sustitución en *para*, similar a la que presentan los calix-[4]-arenos que nos suministraron.

B. Las glico-oligoamidas de **Tipo I: cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.c)** y **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.c)** se hicieron reaccionar con el **tioisocianato de *p*-metoxifenilo**. (Esquema 2.3.1.2) Éste se utilizó como modelo de reactividad de los calix-[4]-arenos ya que está sustituido en la posición *para* por un éter de metilo. (Figura 2.3.1.1.)

³⁰ Para ver las diferentes condiciones empleadas ver la Tabla 2.3.1.



Esquema 2.3.1.2. Preparación de los compuestos **90.a** y **91.c** a partir de los compuestos **2.a** y **60.c**.³⁰

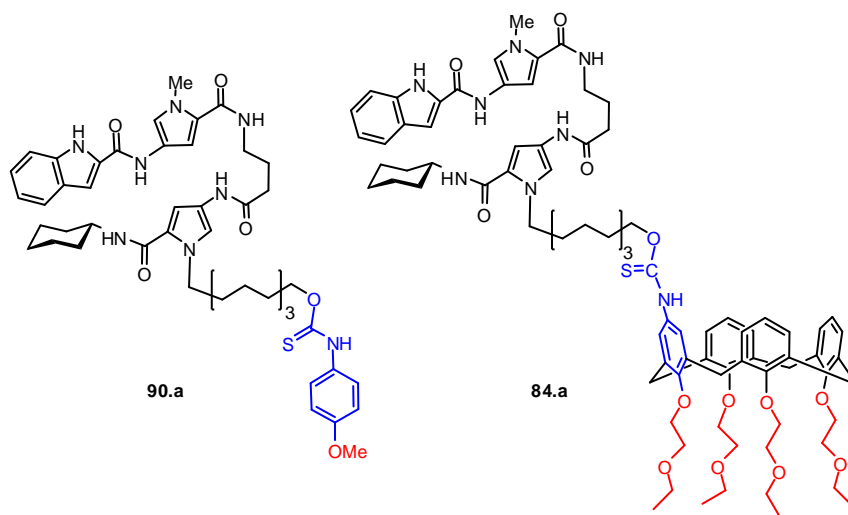


Figura 2.3.1.1. Glico-oligoamidas Tipo II con un grupo *p*-metoxifenilo (**90.a**) y con un calix-[4]-areno (**84.a**)

En la tabla 2.3.1. se resumen las condiciones de reacción empleadas para la obtención de los modelos sintéticos **87-89**, **90.a** y **91.c**.

Tabla 2.3.1. Condiciones de reacción empleadas para la obtención de los modelos sintéticos **87-89**, **90.a** y **91.c**.

Compuesto 1	Compuesto 2	Condiciones	Rdto	Tiocarbamato
1-decanol	Tioisocianato de bencilo	DBU ³¹ (2 eq) /THF	70%	87
1-decanol	Tioisocianato de bencilo	Base P1 ³² (2 eq) /THF	50% ^a	87
1-decanol	Tioisocianato de tritilo	DBU (2 eq) /THF	18%	89
1-decanol	Tioisocianato de tritilo	Base P1 (2 eq) /THF	15%	89
1-decanol	Tioisocianato de tritilo	DABCO (2 eq) /THF	-	-
1-decanol	Tioisocianato de <i>p</i> -metoxifenilo	Base P1 (1 eq) /THF	40% ^a	88
1-decanol	Tioisocianato de <i>p</i> -metoxifenilo	Base P1 (2 eq) /THF	42% ^a	88
1-decanol	Tioisocianato de <i>p</i> -metoxifenilo	Base P1 (1 eq) /DMF	30%	88
60.c	Tioisocianato de <i>p</i> -metoxifenilo	DBU (1 eq), THF, r.t.	48 %	91.c
60.c	Tioisocianato de <i>p</i> -metoxifenilo	Base P1 (1 eq), THF, r.t.	55 %	91.c
2.a	Tioisocianato de <i>p</i> -metoxifenilo	Base P1 (1 eq), THF, r.t.	60 %	90.a

^aSe recupera el producto de partida 1-decanol en un 45%.

El mejor resultado obtenido, fue en la reacción entre el 1-decanol y el tioisocianato de bencilo en presencia de DBU en THF, que condujo, tras

³¹ Kaljurand, I.; Rodima, T.; Leito, I.; Koppel, I. A.; Schwesinger, R. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6202-6208.

³² Base P1: *tert*-Butylimino-tris(dimetilamino)-fosforano. a) Schwesinger, R.; Schlemper, H.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 1167-1169. b) Schwesinger, R.; Hasenfratz, C.; Schlemper, H.; Walz, L.; Peters, E.-M.; Peters, K.; von Schnering, H. G.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1361-1363.

aislamiento y purificación, al tiocarbamato correspondiente, **87**, como un aceite con un 70% de rendimiento.^{33, 34}

Por otro lado, la reacción de **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.c)** y el tioisocianato de *p*-metoxifenilo en presencia de P1 (1 eq) en THF condujo, tras aislamiento y purificación a **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OCSNHPh-*p*-OMe]-γ-Py(A)-Ind (91.c)** como un sólido blanco, con un 55% de rendimiento. (Esquema 2.3.1.2. y Tabla 2.3.1.) El posterior tratamiento del compuesto **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OCSNHPh-*p*-OMe]-γ-Py(A)-Ind (91.c)** con MeONa en MeOH condujo al producto totalmente desacetilado **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OCSNHPh-*p*-OMe]-γ-Py(A)-Ind (80.c)** como un sólido blanco, con un rendimiento del 40%. El rendimiento global de las 2 etapas es del 22%.

La reacción entre el **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)** y el tioisocianato de *p*-metoxifenilo en presencia de P1 (1 eq) en THF condujo, tras aislamiento y purificación a **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OCSNHPh-*p*-OMe]-γ-Py(A)-Ind (90.a)** como un sólido blanco con un 60% de rendimiento. Cabe destacar que tanto en el espectro de ¹H-RMN como en el de ¹³C-RMN en acetona-*d*₆ del compuesto **90.a** la resonancia asignada al **CH₂** λ de la cadena aparece desdoblada; también aparece desdoblado el NH del grupo tiocarbamato (NH-6). El

³³ Cuando se empleó *tert*-Butilimino-tris(dimetilamino)-fosforano (base P1), el rendimiento fue del 50%. En este caso se recupera el producto de partida 1-decanol en un 45%.

³⁴ En el caso de la reacción entre el 1-decanol y el tioisocianato de tritilo en estas mismas condiciones (DBU/THF), el rendimiento es sólo de un 18%, probablemente debido al gran impedimento estérico del grupo tritilo. En el caso del tioisocianato de *p*-metoxifenilo se emplearon diferentes cantidades de base P1. El rendimiento de la reacción fue el mismo cuando se emplea 1 o 2 equivalentes de base P1. También se ensayaron diferentes disolventes, obteniéndose mayor rendimiento cuando se emplea THF (40%) en lugar de DMF (30%). Tras aislamiento y purificación se obtuvo el compuesto **88** como un aceite, con rendimientos comprendidos entre el 30 y el 42%, dependiendo de las condiciones empleadas. Nuestros datos indican que el rendimiento de la reacción aumenta con la disminución del impedimento estérico del tioisocianato.

desdoblamiento puede atribuirse a la isomería cis/trans del tiocarbamato.^{35, 36} (Figura 2.3.1.2.)

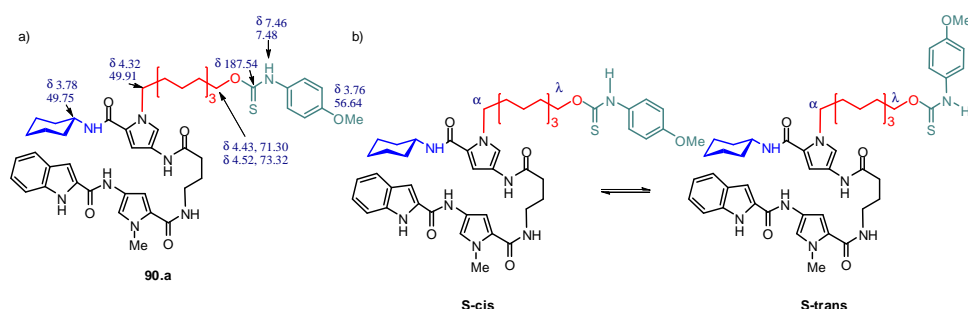


Figura 2.3.1.2. a) Desplazamiento de las resonancias de ^1H y ^{13}C -RMN características para el compuesto **90.a** en acetona- d_6 b) Posibles conformeros para el compuesto **90.a**

Los entornos químicos de los CH_2 λ de la cadena y del NH-6 son distintos en ambos conformeros.

Así, a modo de resumen:

➤ Se ha ensayado la reacción del 1-decanol con tioisocianatos de diferente voluminosidad empleando diferentes bases.³⁷ Se ha puesto de manifiesto la importancia del efecto estérico del sustituyente del tioisocianato. Así, cuanto más voluminoso es el sustituyente, menor es el rendimiento de la obtención de los tiocarbamatos.

³⁵ Para isomería cis/trans de los tiocarbamatos ver: a) Stewart, W. E.; Siddall, T. H. *Chem. Rev.* **1970**, 5, 517-551. b) Bauman, R. A. *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 4129-4132. c) Soignet, D. M.; Boudreaux, G.J.; Berni, R. J.; Benerito, R. R. *Applied Spectroscopy*, **1974**, 28, 350-353. d)

³⁶ El desdoblamiento de las señales adyacentes al grupo tiocarbamato también se ha observado en los modelos sintéticos $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{OCSNHBn}$ (**87**) y $p\text{-MeO-Ph-NHCSO}(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$ (**88**).

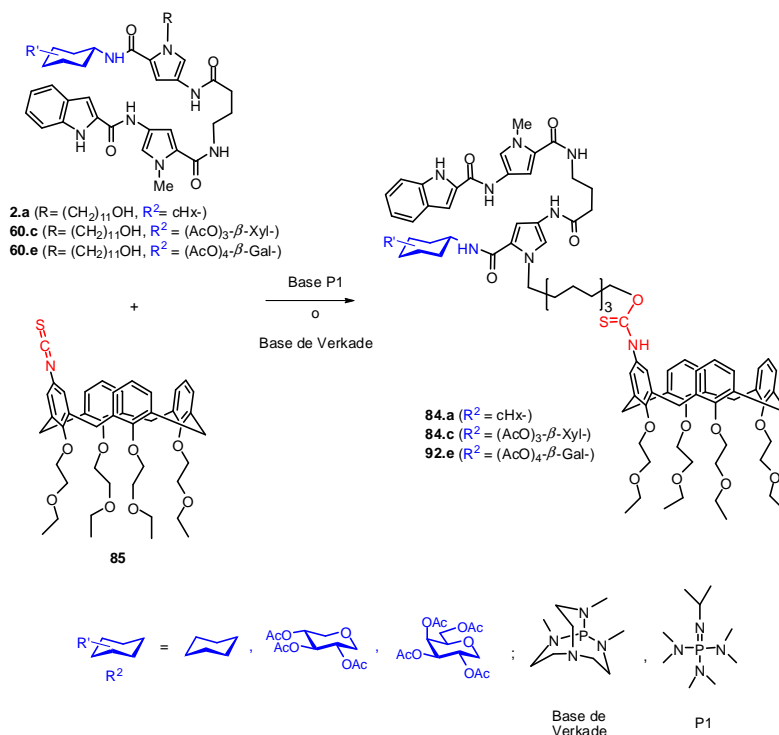
³⁷ Se han empleado DBU ($\text{pK}_a = 24.13$ en acetonitrilo, ref. 31) y PI ($\text{pK}_a = 26.89$ en acetonitrilo, ref 32.b)

-
- 90.a**
- 90.c**

227

2.3.2. Preparación de derivados tipo glico-oligoamida- *p*-calix-[4]-arenos (84.a-c y 84.e)

Una vez que se pusieron a punto las condiciones de reacción con los diferentes modelos sintéticos, se realizaron las reacciones con las **glico-oligoamidas de Tipo I**: **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)**, **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.c)** y **(AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.e)** y el calix-[4]-areno **85** utilizando inicialmente las mejores condiciones obtenidas con los modelos sintéticos anteriores (Base P1/THF). (Esquema 2.3.2.1.)



Esquema 2.3.2.1. Preparación de los compuestos **84.a**, **84.c** y **92.e** a partir de **2.a**, **60.c** y **60.e**.³⁸

³⁸ Para ver las diferentes condiciones empleadas ver la Tabla 2.3.2.1.

En la tabla 2.3.2.1. se recogen todas las condiciones empleadas para la obtención de los compuestos **84.a**, **84.c** y **92.e**

Tabla 2.3.2.1. Condiciones y productos obtenidos en las reacciones de formación de los derivados **84.a**, **84.c** y **92.e**.^a

Entrada	Glico-oligoamida tipo I	Condiciones	Productos obtenidos		Productos de partida recuperados	
			Glico-oligoamida tipo II	Calix-[4]-areno-THF ^b	Glico-oligoamida tipo I	Calix-[4]-areno
1	2.a	P1 (1 eq), THF	84.a (4 %)	85-THF (20%)	2.a (60%)	85 (25%)
2	2.a	P1 (2 eq), THF	84.a (5 %)	85-THF (20%)	2.a (60%)	85 (25%)
3	60.c	P1 (1 eq), THF	84.c (3 %)	85-THF (30%)	60.c (50%)	85 (28%)
4	60.e	P1 (1 eq), THF	92.e (3 %)	85-THF (9%)	60.e (40%)	85 (40%)
5	60.e	P1 (1 eq), DMF	92.e (0 %)	-	60.e (85%)	85 (80%)
6	2.a	Base de Verkade (1eq), THF	84.a (10%)	85-THF (15%)	2.a (70%)	85
7	60.e	Base de Verkade (1eq), THF	92.e (6 %)	85-THF (10%)	60.e (35%)	85 (8%)
8	60.e	Base de Verkade (1eq), CH ₃ CN	92.e (12 %)	-	60.e (40%)	85 (25%)

^a Todas las reacciones se realizaron con el calix-[4]-areno **85**.

^b En la reacción se obtuvo también un subproducto con R_f = 0.37 en hexano/AcOEt (1:1), aislable por cromatografía en columna, cuyas masas obtenidas por ionización química por electrospray (*API-ES*) en modo positivo fueron asignadas al compuesto cuyo peso molecular coincide con el del calix-[4]-areno más una molécula de THF; por lo que se cree que el disolvente se introduce dentro del calixareno.

Cuando se emplearon las condiciones puestas a punto en el apartado 2.3.1 (Base P1 (1 o 2 eq)/THF, $pK_a = 28.7$ en THF³⁹) (Tabla 2.3.2.1, entradas 1, 2, 3 y 4) los rendimientos para la obtención del producto deseado no superaron el 5%; recuperándose mayoritariamente los productos de partida, **glico-oligoamidas de Tipo I** y **calix-[4]-areno (85)**, respectivamente. Esto puede ser debido al impedimento estérico del tioisocianato, ya que el calix-[4]-areno es muy voluminoso. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos en las reacciones entre el decanol y los diferentes tioisocianatos, en las que el rendimiento disminuía a medida que aumentaba el impedimento estérico de los tioisocianatos.

Cuando se realizaron las reacciones empleando la base de Verkade⁴⁰ en THF ($pK_a = 26.7$ en THF^{40.b}) (Tabla 2.3.2.1, entradas 6 y 7) el rendimiento aumentó de un 5 a un 10 % en el caso del **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)** recuperándose el producto de partida **2.a** en un 70%. Y en el caso de **(AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.e)** el rendimiento aumentó de un 3 a un 6%, recuperándose los productos de partida calix-[4]-areno **85** y **(AcO)₄- β -Gal-Py[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py-Ind (60.e)** en un 8 y un 35 % respectivamente.

Por otro lado, en todas las reacciones en las que se emplea THF como disolvente (Tabla 2.3.2.1, entradas 1-7), se forma un subproducto de $R_f = 0.37$ en hexano/AcOEt (1:1), aislable por cromatografía en columna cuyas masas coinciden con el complejo calix-[4]-areno **85**-THF (843.8 $[M+1]^+$, 844.8 $[M+2]^+$ y 865.7 $[M+Na]^+$). Todo parece indicar que éste se introduce en la cavidad del

³⁹ Kolomeitsev, A. A.; Koppel, I. A.; Rodima, T.; Barten, J.; Lork, E.; Röschenthaler, G.-V.; Kaljurand, I.; Kütt, A.; Koppel, I.; Mäemets, V.; Leito, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17656-17666

⁴⁰ a) Tang, J.-S.; Verkade, J. G. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 896-898. b) Bosco A. D'Sa; Verkade, J. G. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2963-2966. c) Tang, J.; Dopke, J.; Verkade, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5015-5020. d) Tang, J.; Mohan, T.; Verkade, J. G. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4931-4938.

calix-[4]-areno, lo que posiblemente genera, además, cambios conformacionales que disminuyen la reactividad del calixareno.⁴¹

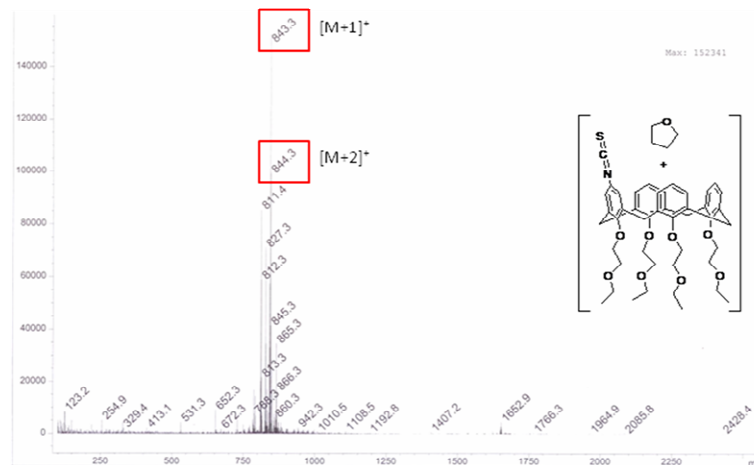


Figura 2.3.2.1. Espectro de masas, *API-ES*, del complejo calix-[4]-areno **85**-THF.

En el caso del derivado de galactosa, los mejores resultados se obtuvieron cuando se empleó la base de Verkade en acetonitrilo ($pK_a = 41.2$ en acetonitrilo^{40.b)}) (Tabla 2.3.2.1, entrada 8). Así, la reacción de **(AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.e)** y el calix-[4]-areno **85** empleando la base de Verkade en acetonitrilo condujo, tras aislamiento y purificación, al producto **(AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (87)** en un 12% de rendimiento; recuperándose un 25% de calix-[4]-areno **85** y un 40 % de **(AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.e)**.

⁴¹ Para ver ejemplos de inclusión de disolventes en [4]-calixarenos: Balazs, B.; Grun, A.; Bitter, I.; Toth, G. *Magn. Reson. Chem.* **2008**, *46*, 707-712.

La mejora del rendimiento al emplear acetonitrilo puede estar relacionada con dos factores:

✓ La base de Verkade tiene un pK_a de 26.7 en THF que aumenta hasta un 41.2 en acetonitrilo.^{40.b}

✓ El acetonitrilo no parece formar complejo con el calix-[4]-areno, dado que no se ha aislado ningún subproducto con masa molecular correspondiente a dicho complejo de inclusión.

El posterior tratamiento del tiocarbamato **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (92.e)** con MeONa en metanol condujo al producto totalmente desacetilado **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (84.e)** con un rendimiento del 40%.

La asignación estructural de los compuestos **84.a, c, e** y **92.e** se realizó en base a experimentos COSY, TOCSY, NOESY, HSQC y HMBC y se describe en la parte experimental.⁴²

La asignación del derivado tipo glico-oligoamida-calix-[4]-areno **84.e** en acetona-d₆ se realizó haciendo uso de experimentos COSY, 2D TOCSY (60 ms), NOESY (700 ms y 400ms) y ROESY (400ms).

Para la asignación de las resonancias de los protones correspondientes al residuo de calix-[4]-areno se tomó como referencia el espectro del producto de partida **85**⁴³.

Las resonancias de los protones aromáticos del calix-[4]-areno no se observan en el espectro de ¹H-RMN,⁴⁴ aunque si se observan en los espectros

⁴² Sección: 2.2.3. Preparación de los derivados de calix-[4]-areno.

⁴³ Para ver los datos espectroscópicos del calixareno **85** ver la parte experimental; sección 2.2.3.1. Caracterización de monotioisocianato-[4]-calixareno (**85**).

⁴⁴ La diferencia de las intensidades de las resonancias comparando las resonancias del fragmento de la oligoamida y el del calixareno puede ser debido a que ambos fragmentos tienen distinta movilidad por lo que tienen un tiempo de relajación diferente.

bidimensionales. Además, la intensidad de las demás resonancias de los protones del calix-[4]-areno es menor que la intensidad de las resonancias de los protones del fragmento de la glico-oligoamida.

Los CH₂ puente que unen los anillos aromáticos salen como sistemas AB. La resonancia a 4.58 ppm ($J = 13.5$ Hz) se asignó al protón que queda hacia el interior de la cavidad del calixareno, debido a la existencia de señales nOe entre esta resonancia y los de los CH₂ de las cadenas alquílicas del calixareno, y la resonancia a 3.13 ppm se asignó al protón que queda hacia el exterior de la cavidad del calixareno.

En la figura 2.3.2.2. se muestran las resonancias de ¹H-RMN en acetona-d₆ del fragmento de calix-[4]-areno del compuesto **84.e** R: (HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁O]-γ-Py(A)-Ind.

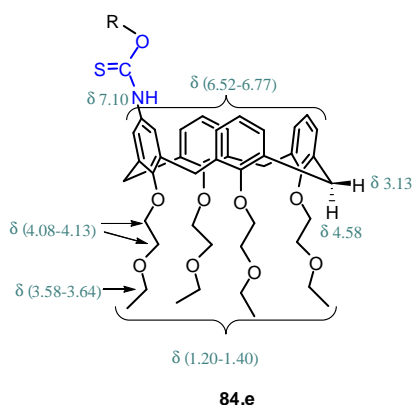


Figura 2.3.2.2. Resonancias de ¹H-RMN en acetona del fragmento de calix-[4]-areno del compuesto **84.e** R: (HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁O]-γ-Py(A)-Ind

Respecto a la asignación del fragmento glico-oligoamídico del compuesto **84.e**, la asignación de los protones del fragmento del indol se llevo a cabo de manera secuencial haciendo uso del espectro NOESY: se observan nOes entre el

CH-3 (7.23 ppm) y el CH-4 (7.63 ppm); entre el CH-4 (7.63 ppm) y el CH-5 (7.07 ppm); entre el CH-5 (7.07 ppm) y el CH-6 (7.23 ppm) y entre el CH-6 (7.23 ppm) y el CH-7 (7.57 ppm). Los protones de los pirroles Py-5A y Py-5B se asignaron a las resonancias a 7.33 ppm y 7.37 debido a la existencia de señales nOe con el Me y el CH₂N de la cadena, respectivamente. A partir de éstos y con ayuda del experimento 2D-TOCSY, se asignaron las resonancias de los protones de los pirroles Py-3A y Py-3B. (Figura 2.3.2.3.)

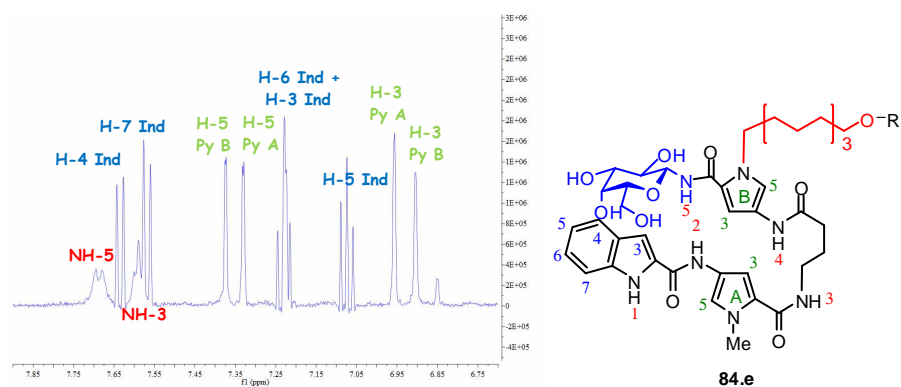
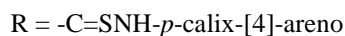


Figura 2.3.2.3. ¹H-RMN (500MHz, 298K) de (HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno-γ-Py(A)-Ind (84.e) en acetona-d₆. Ampliación de 6.70-7.90 ppm.

Asignación de los protones aromáticos del fragmento glico-oligoamídico.



Respecto a los protones del azúcar, la resonancia del protón anomérico del azúcar se asignó al triplete observado a 5.08 ppm ($J = 9.00$ Hz). A partir de éste y con ayuda del experimento TOCSY se pudieron localizar los demás protones del azúcar. Es difícil realizar una asignación inequívoca de las resonancias del carbohidrato debido al solapamiento de éstas con otras

resonancias de protones de la molécula que aparecen también entre 3.4 y 4.5 ppm. (Figura 2.3.2.4.)

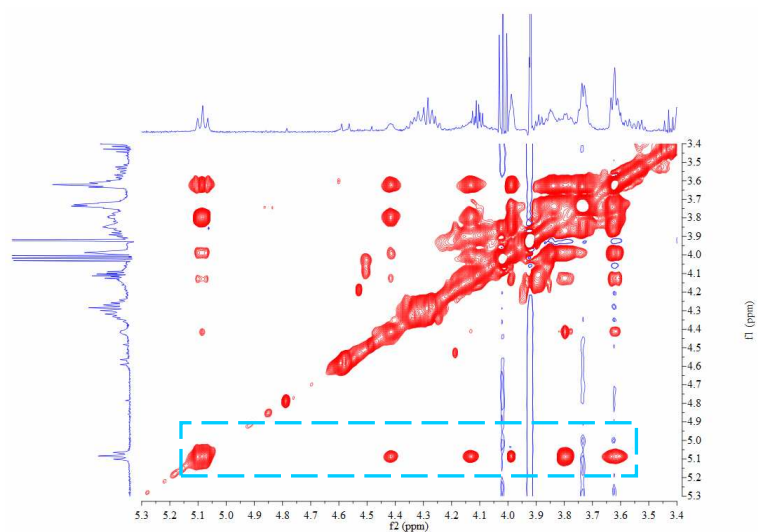


Figura 2.3.2.4. 2D-TOCSY-RMN (500MHz, 298K) de $(\text{HO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OC=SNH-}p\text{-calix-[4]-areno-}\gamma\text{-Py(A)-Ind (84.e)}$ en acetona- d_6 . Ampliación de 3.4-5.3 ppm. En el recuadro se muestran las resonancias de los protones del azúcar.

En la figura 2.3.2.5. se muestran los desplazamientos químicos de ^1H -RMN en acetona- d_6 del fragmento glico-oligoamídico del compuesto **84.e**.

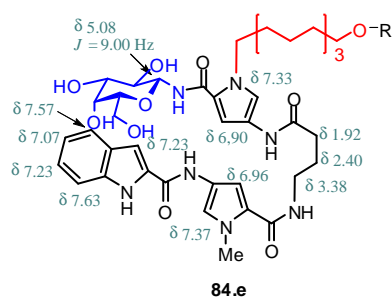
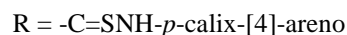


Figura 2.3.2.5. Desplazamientos químicos y constante de acoplamiento $^3J_{H-1/H-2}$ de las resonancias de ^1H -RMN en acetona- d_6 del fragmento oligoamídico del compuesto **84.e**.



El experimento 2D-NOESY ($T_m = 400\text{ms}$) ha proporcionado información sobre la disposición de la cadena, el calix-[4]-areno y el fragmento de glico-oligoamida del compuesto **(HO) $_4$ - β -Gal-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OC=SNH- p -calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.e)** en acetona- d_6 .

En el espectro 2D-NOESY del compuesto **(HO) $_4$ - β -Gal-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OC=SNH- p -calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.e)** en acetona- d_6 se han detectado nOes intra-hebra entre los protones amídicos y los protones en posición 3 de los anillos aromáticos que caracterizan la forma arqueada de estas moléculas.

Sin embargo, no se detectaron los nOes inter-hebra característicos de la estructura plegada (ni entre los pirroles A y B ni entre la galactosa y el indol) por lo que podría proponerse que las conformaciones mayoritarias en disolución de acetona- d_6 son lineales. (Figura 2.3.2.6.)

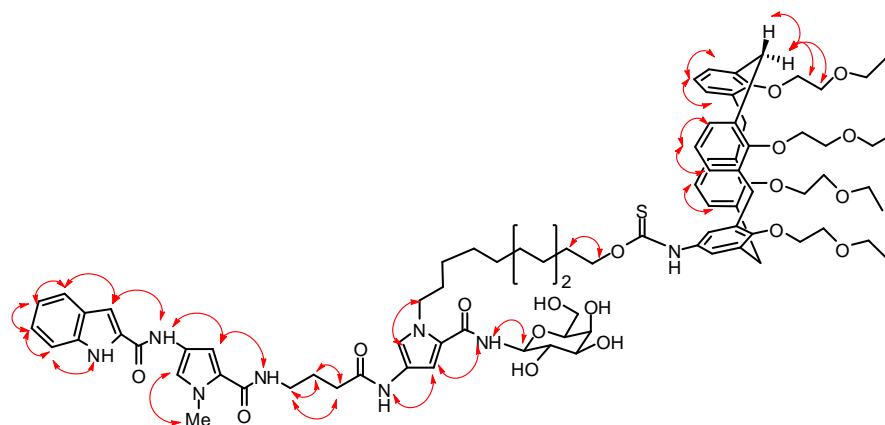


Figura 2.3.2.6. nOe's observados en el espectro NOESY de **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (84.e)**

Tampoco se observaron nOes entre el fragmento de calix-[4]-areno y el fragmento oligoamídico, **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁O-]-γ-Py(A)-Ind**, del compuesto **84.e**. Por lo que se puede concluir que al igual que ocurría en la oligoamida tipo vector B, **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)**, en este caso acetona-d₆, en este caso la conformación también está caracterizada por la lejanía entre los dos centros de interacción (la glico-oligoamida y el calix-[4]-areno). (Figura 2.3.2.7.)

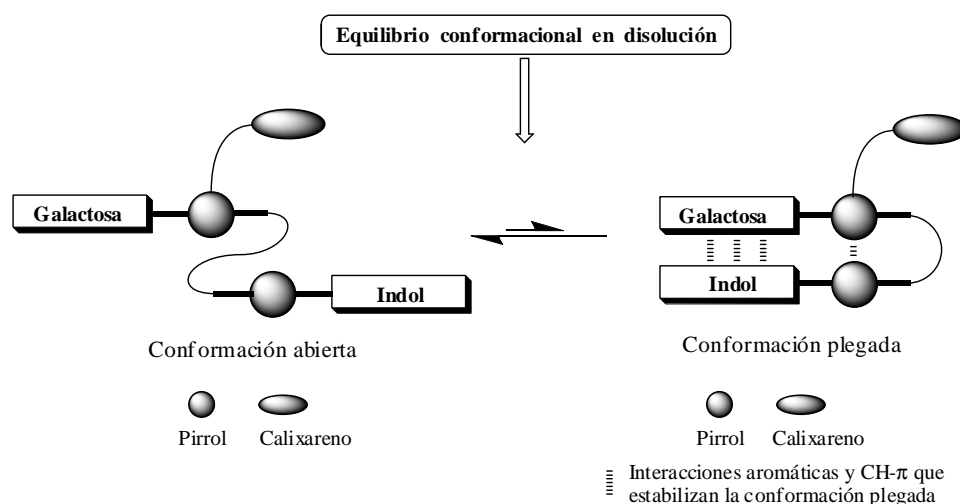
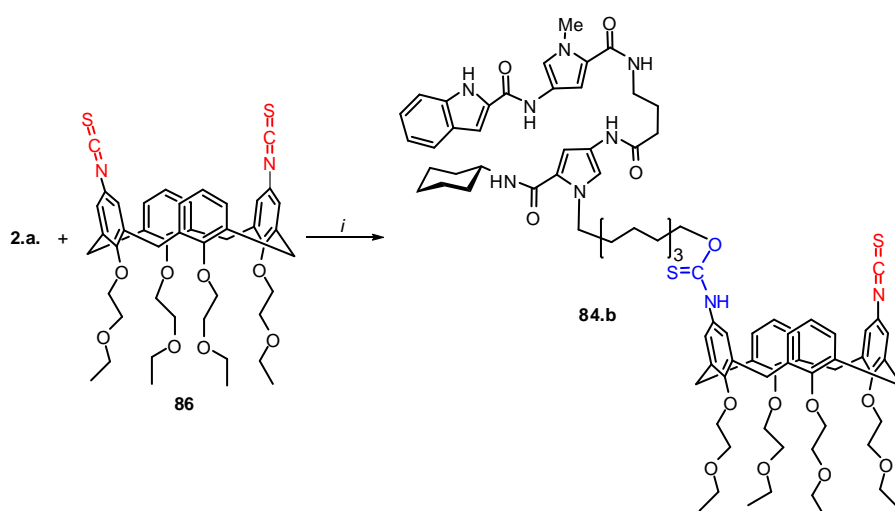


Figura 2.3.2.7. Esquema del equilibrio conformacional en disolución de acetona- d_6 de *p*-(HO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.e)

Por otro lado, se ha intentado obtener un ligando divalente con dos unidades de glico-oligoamidas unidas por un calix-[4]-areno. Así, se realizó la reacción de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)** y ***p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-areno (86)** en THF en presencia de la base P1, a t. a. durante 5 días, que condujo al ***p*-cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno-*p*-NCS]- γ -Py(A)-Ind (84.b)** en un 7%. Recuperándose también un 40% de ***p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-areno (86)** y un 57% de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)**. En esta reacción se emplearon 2 equivalentes de glico-oligoamida y de base P1 respecto al calix-[4]-areno, aunque se obtuvo el compuesto monosustituido en lugar del disustituido.⁴⁵ (Esquema 2.3.2.2.)

⁴⁵ Tan pronto como se disponga de ***p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-areno (86)** se realizará la reacción de éste con las glico-oligoamidas **β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (2.c)** y

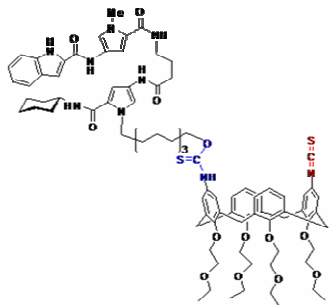


Clave: i) Base P1, THF

Esquema 2.3.2.2. Preparación del compuesto **84.b**

La asignación de las resonancias del compuesto **84.b** se realizó en base a los datos espectroscópicos obtenidos de los espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, COSY, TOCSY, HSQC y HMBC en acetona- d_6 . Para dicha asignación, se siguió la misma metodología que para la asignación de los compuestos **84.a**, **84.c** y **84.e**. Por otro lado, en el espectro de masas **Maldi-tof** el pico m/z 1577.84 se asignó al pico molecular más el ión Na.

β -Gal-Py(B)[(CH₁₁)OH]- γ -Py(A)-Ind (2.e), así como de su modelo, el **cHx-Py(B)[(CH₁₁)OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)** empleando la base de Verkade.



calix-[4]-areno-*p*-NCS]- γ -Py-Ind (84.b)

oligoamídico del compuesto **84.b** en acetona-d₆.

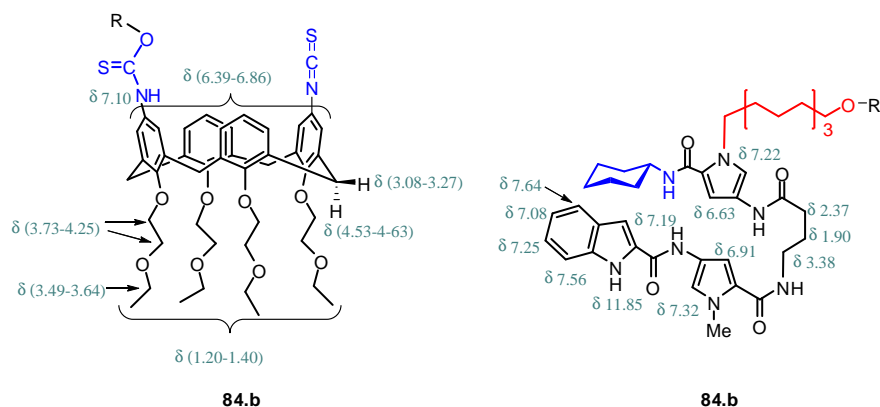


Figura 2.3.2.9. Desplazamientos químicos de las resonancias de ^1H -RMN del fragmento de calix-[4]-areno y del fragmento oligoamídico del compuesto **84.b** en acetona- d_6 . R = $\text{cHx-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{O-R]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ y R' = $p\text{-[C=SNH-calix-[4]areno]}$

En el espectro 2D-NOESY del compuesto $\text{cHx-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OC=SNH-}p\text{-calix-[4]-areno-}p\text{-NCS]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (**84.b**) en acetona- d_6 se han detectado nOes intra-hebra entre los protones amídicos y los protones en posición 3 de los anillos aromáticos que caracterizan la forma arqueada de estas moléculas. (Figura 2.3.2.10.)

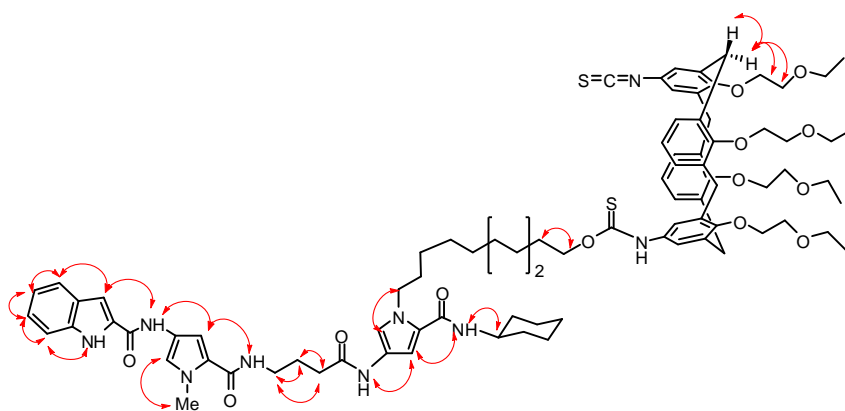


Figura 2.3.2.10. nOe's observados en el espectro NOESY de $\text{cHx-Py(B)[(CH}_2\text{)}_{11}\text{OC=SNH-}p\text{-calix-[4]-areno-}p\text{-NCS]-}\gamma\text{-Py(A)-Ind}$ (**84.b**)

Sin embargo, no se detectaron nOes inter-hebra entre los pirroles A y B ni entre el ciclohexilo y el indol, característicos de las estructuras plegadas. Esto parece indicar que las conformaciones mayoritarias en disolución de acetona- d_6 son lineales.

Tampoco se observaron nOes entre el fragmento de calixareno y el fragmento oligoamídico del compuesto **84.b**. Por lo que, al igual que ocurre en las demás glico-oligoamidas del tipo vector B estudiadas, en este caso la conformación también está caracterizada por la lejanía entre los dos centros de interacción (la glico-oligoamida y el calix-[4]-areno)

A modo de resumen:

Se han sintetizado los ligandos de fórmula general **glico-oligoamida-*p*-calix-[4]-areno**: **cHx-Py** $[(CH_2)_{11}OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-\gamma-Py-Ind$ (**84.a**), **cHx-Py(B)** $[(CH_2)_{11}OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno-*p*-NCS]-\gamma-Py(A)-Ind$ (**84.b**), **(AcO) $_4$ - β -Xyl-Py(B)** $[(CH_2)_{11}OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-\gamma-Py(A)-Ind$ (**84.c**) y **(HO) $_4$ - β -Gal-Py(B)** $[(CH_2)_{11}OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-\gamma-Py(A)-Ind$ (**84.e**).

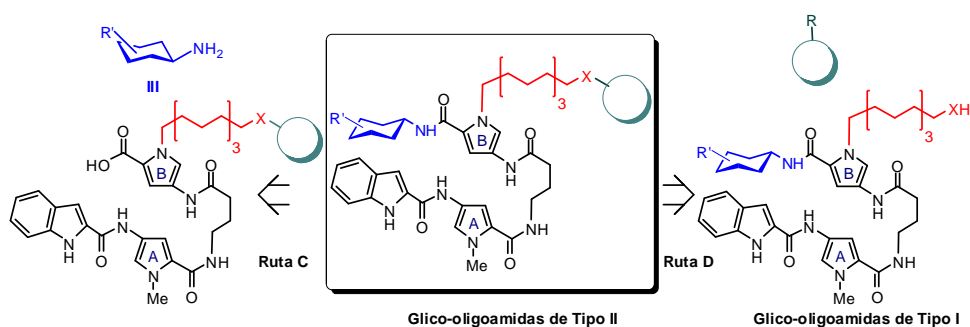
Por el momento, sólo se han conseguido obtener estos compuestos con rendimientos relativamente bajos (5-12%), aunque hay que tener en cuenta la gran complejidad estructural de las moléculas obtenidas así como su elevado peso molecular.


En el grupo de investigación se continúa trabajando con el objetivo de obtener los derivados divalentes ***p*-1,3-(glico-oligoamida) $_2$ -calix-[4]-areno**, para estudiar la interacción de éstos con el ADN.

En el caso de que los resultados de interacción con el ADN de estas primeras glico-oligoamidas mono y divalentes sean satisfactorios, se trabajará en la optimización de la síntesis, para poder obtener una familia de ligandos mono (***p*-glico-oligoamida-calix-[4]-areno**) y divalentes (***p*-1,3-(glico-oligoamida) $_2$ -calix-[4]-areno**) para estudiar las características de la interacción de ligandos divalentes con ADN.

2.4. COMPARACION DE LAS RUTAS C Y D PARA LA SÍNTESIS DE GLICO-OLIGOAMIDAS TIPO II

En este capítulo de la tesis se ha puesto a punto una metodología sintética versátil para la obtención de **glico-oligoamidas Tipo II** en disolución por dos rutas sintéticas alternativas: **Ruta C:** Azúcar-NH₂ + HO-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γ-Py(A)-Ind y **Ruta D:** Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nXH]-γ-Py(A)-Ind (Glico-oligoamida Tipo I) + R-O. (Esquema 2.4.)



Esquema 2.4. Esquema retrosintético para la síntesis de **glico-oligoamidas Tipo II** por las **Rutas C y D**. X = O, S; **III**: cHx-NH₂ (**51**), (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (**36**), (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (**39**); R = cualquier grupo funcional que reaccione con XH;  = representación general para el segundo centro de interacción.

Mediante estas dos rutas sintéticas pueden obtenerse glico-oligoamidas modificadas sólo en el extremo C terminal de la oligoamida (R'), sólo en el extremo de la cadena alifática (R) o en ambas posiciones. (Figura 2.4.)

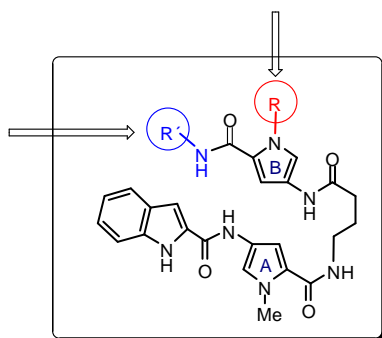


Figura 2.4. Fórmula general para las glico-oligoamidas

Así, mediante esta metodología sintética desarrollada, cuando se requiera sintetizar una familia de glico-oligoamidas con la misma unidad estructural en el extremo de la cadena alquílica (R), variando la naturaleza del sustituyente en el extremo C terminal de la oligoamida (R'), será útil la **Ruta C**. El intermedio, en este caso, es el ácido **HO-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γ-Py(A)-Ind** (O = representación general para el segundo centro de interacción) que se puede preparar a gran escala y posteriormente se hace reaccionar con diversas aminas (**III**) para formar el enlace amida en la posición anomérica. (Esquema 2.4)

Por otro lado, cuando se requieran sintetizar una familia de glico-oligoamidas con un mismo centro de interacción en el extremo C terminal de la oligoamida (R'), variando la naturaleza del sustituyente en el extremo de la cadena alquílica (R), será útil la **Ruta D**. En este caso, se puede preparar el compuesto **Azúcar-NH-Py(B)[(CH₂)_nXH]-γ-Py(A)-Ind** a gran escala y tras reacción del extremo de la cadena con diversos sustituyentes se puede obtener una amplia variedad de ligandos. (Esquema 2.4)

En este capítulo de la tesis, se ha descrito la síntesis de glico-oligoamidas Tipo II empleando tanto la Ruta C como la Ruta D. Una

característica común de todas las glico-oligoamidas tipo II estudiadas hasta el momento es que todas ellas tienen una conformación en disolventes orgánicos caracterizada por la lejanía entre los dos centros de interacción; de esta manera se puede dar la posibilidad de que los dos centros actúen de manera independiente.

Las dos rutas sintéticas desarrolladas son complementarias y permiten tener acceso a cualquier tipo de glico-oligoamida mono, di o multivalente, con objeto de poder satisfacer en cada momento las necesidades del proyecto. Las distintas familias de glico-oligoamidas con diversos carbohidratos serán objeto de estudio con su interacción con el ADN.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Conclusiones metodológicas

✓ Se ha desarrollado una estrategia sintética para obtener derivados de **Azúcar-Py(B)- γ Py(A)-Ind** mediante cuatro rutas sintéticas. Éstas llevan a obtener productos con diversidad estructural en las posiciones **R** y **R'**. (Figura 1)

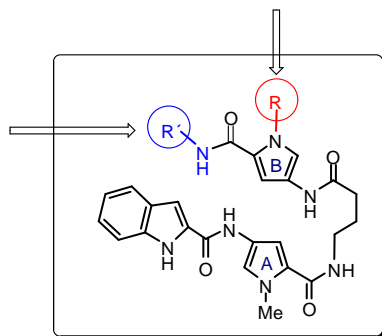


Figura 1. Fórmula general para las glico-oligoamidas. **R'** = carbohidrato

Conclusiones prácticas

✓ La **Ruta A** permite obtener los ligandos de estructuras generales tipo **Azúcar-Py(B)- γ Py(A)-Ind** y **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ Py(A)-Ind** (Figuras 2 y 3)

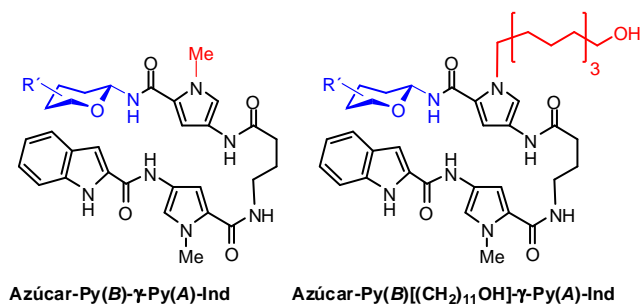
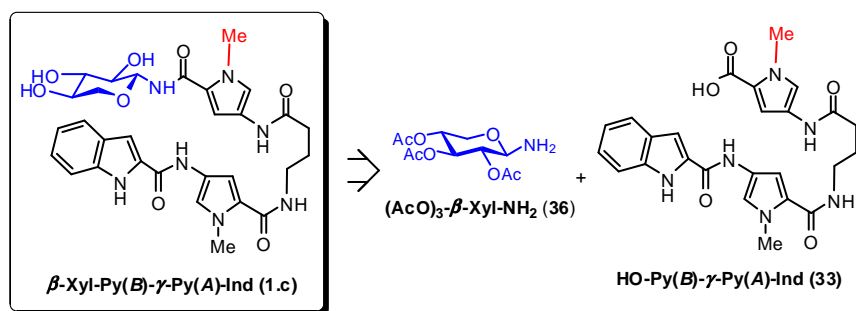
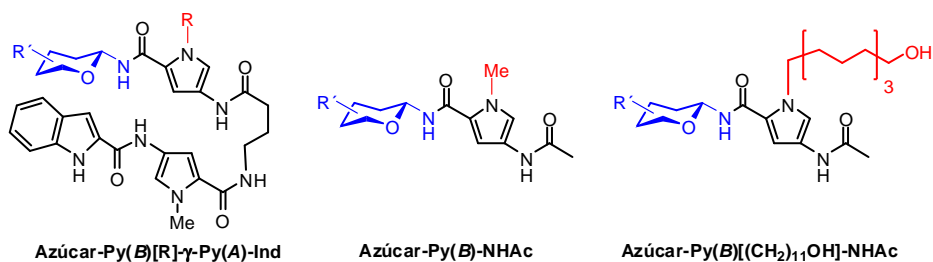


Figura 2. Estructura general de los compuestos obtenidos por la **Ruta A**.



✓ La **Ruta B** permite la obtención no sólo los ligandos de tipo **Azúcar-Py(B)-γPy(A)-Ind**, sino también de los compuestos de tipo **Azúcar-Py(B)-NHAc** y **Azúcar-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc**, usados como modelos en estudios conformacionales. (Figuras 4 y 5)



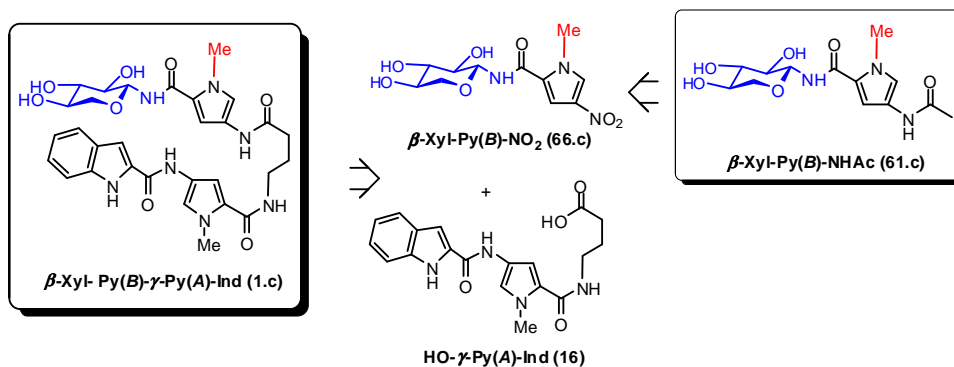


Figura 5. Ejemplo de compuestos obtenidos por la **Ruta B**

✓ Por la **Ruta A** se ha sintetizado, además, un mimético de glico-péptido. De esta manera queda demostrada la versatilidad de la metodología sintética desarrollada para la obtención de glico-oligoamidas con estructuras sacarídicas de diferente naturaleza. (Figura 6)

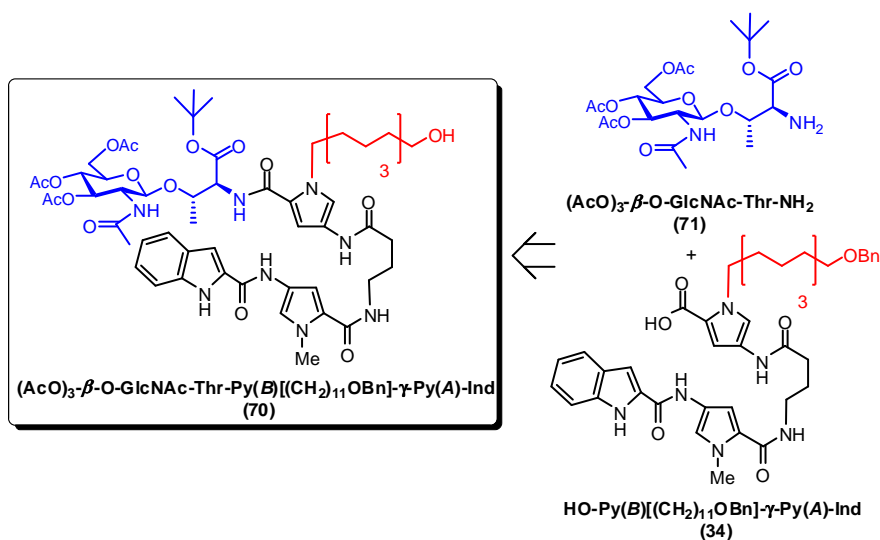


Figura 6. Mimético de glico-péptido obtenido por la **Ruta A**

✓ La **Ruta C** se ha desarrollado para obtener ligandos con más de un centro de interacción cuya estructura general es **Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γ-Py(A)-Ind**. (Figuras 7 y 8)

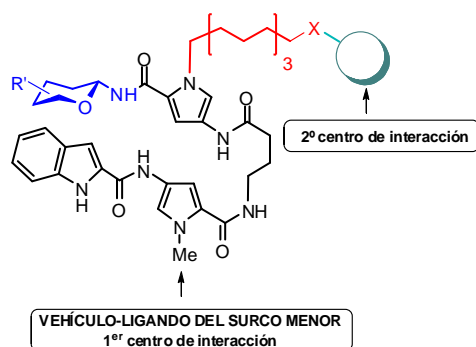


Figura 7. Estructura general de los compuestos **Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γ-Py(A)-Ind**

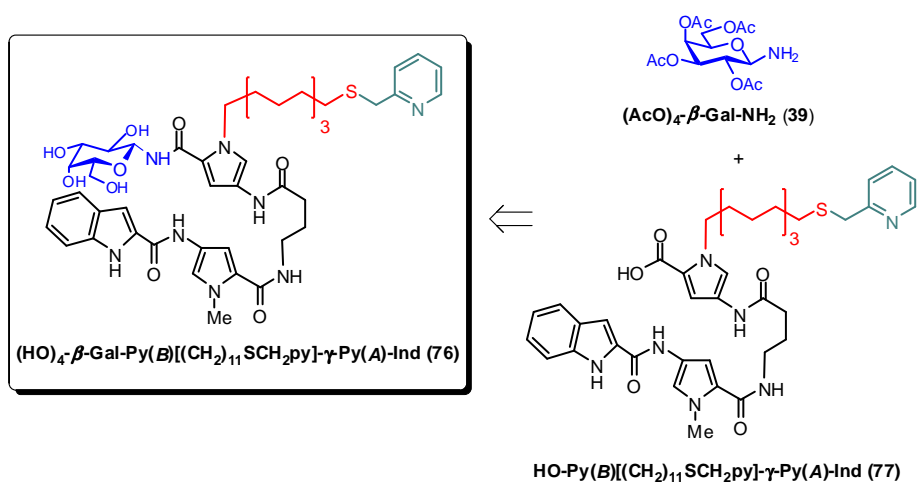


Figura 8. Ejemplo de compuesto obtenido por la **Ruta C**

✓ La **Ruta D** es una alternativa para obtener ligandos con más de un centro de interacción de tipo **Azúcar-Py(B)[(CH₂)_nX-O]-γPy(A)-Ind.** (Figura 9)

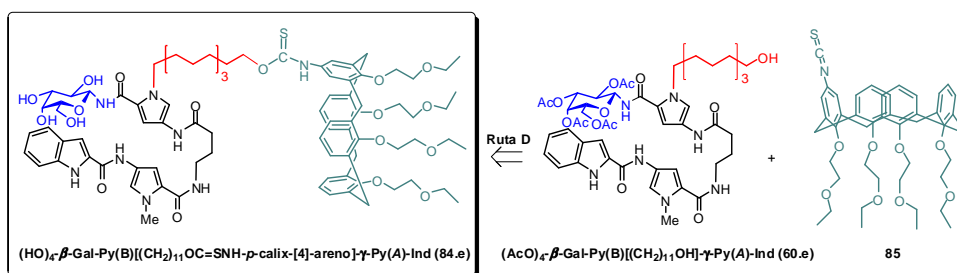


Figura 9. Ejemplo de compuesto obtenido por la **Ruta D**

PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y Métodos

Disolventes y Reactivos

Todas las reacciones fueron realizadas bajo atmósfera de argon, excepto las indicadas en cada caso. Los reactivos y disolventes utilizados provienen de las casas comerciales *Aldrich*, *Fluka*, *Merck*, *Sigma* y *Acros* y cuando fue necesario fueron purificados por procedimientos habituales.¹

Los siguientes disolventes fueron destilados y secados bajo atmósfera de argon como se indica a continuación: CH₂Cl₂ y DMF sobre CaH₂ (posteriormente se utilizó DMF comercial seca por *Fluka*); THF (presecado sobre KOH) sobre Na/benzofenona; CH₃CN, y MeOH sobre tamiz molecular de 4 Å de diámetro de poro previamente activado.

La *Celita* utilizada fue *Celita-545* de la casa comercial *SDS*. La Et₃N e *i*-Pr₂EtN se destilaron sobre CaH₂ bajo atmósfera de argon. El NaH (al 60% en aceite mineral) fue lavado dos veces con hexano, bajo atmósfera de argon, inmediatamente antes de ser utilizado. El CDCl₃ empleado en RMN fue filtrado a través de Al₂O₃ básica *150 Merck (tipo T, 0.063-0.200 mm)* cuando la muestra a analizar era presumiblemente sensible a un ligero medio ácido.

Procedimientos Generales

La purificación de los productos de reacción se realizó por cromatografía en columna bajo presión (cromatografía flash),² utilizando como fase estacionaria

¹ Armarego, W.L.; Perrin, D.D. *Purification of Laboratory Chemicals*; Butterworth-Heinemann: Oxford, **2009**.

² Still, W.C.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

gel de sílice *60 Merck* (con un tamaño de partícula 230-400 *mesh*) y como fase móvil disolventes previamente destilados. El eluyente empleado se indica en cada caso y las proporciones de la mezcla de disolventes utilizadas son siempre volumen/volumen.

El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (TLC) empleando cromatofolios de gel de sílice *60F₂₅₄ Merck*, con soporte de aluminio, en capas de 0.2 mm de espesor. El revelado de las placas se realizó con: vapores de yodo, vapores de amoníaco, disolución de 2,4-dinitrofenilhidracina al 2% en EtOH (con un 0.04% en volumen de H₂SO₄ 97%), disolución de ácido fosfomolibdico al 10% en EtOH y visor de luz UV (254 y 366 nm), ninhidrina en EtOH, y mostain.

Técnicas y Aparatos

• *Resonancia Magnética Nuclear*

Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón ¹H y carbono ¹³C (completamente desacoplados) se realizaron a temperatura ambiente en el disolvente indicado en cada caso (CDCl₃, DMSO, CD₃OD y CO(CD₃)), empleando los siguientes aparatos: *Varian Gemini-200* (¹H a 200 MHz y ¹³C a 50 MHz), *Varian INOVA-300* (¹H a 300 MHz y ¹³C a 75 MHz), *Bruker Avance-300* (¹H a 300 MHz y ¹³C a 75 MHz), *Varian INOVA-400* (¹H a 400 MHz y ¹³C a 100 MHz), *Varian MERCURI-400* (¹H a 400 MHz y ¹³C a 100 MHz), *Varian INOVA-500* (¹H a 500 MHz y ¹³C a 125 MHz) y *Bruker Avance-500* (¹H a 500 MHz y ¹³C a 125 MHz). Los valores de los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (δ, ppm), utilizando como referencia interna la señal residual del disolvente: CDCl₃, 7.26 ppm (¹H-RMN) y 77.0 ppm (¹³C-RMN); DMSO 2.50 ppm (¹H-RMN) y 39.43 ppm (¹³C-RMN); CD₃OD, 3.31 ppm (¹H-RMN) y 49.0 ppm (¹³C-RMN); CO(CD₃)₂ 2.06 ppm (¹H-RMN) y 206.7 / 30.84 ppm (¹³C-RMN).

Los espectros de protón se describen indicando el número de protones y la multiplicidad aparente de cada señal. Las constantes de acoplamiento (J) son las aparentes y se expresan en Hz. Se han empleado las siguientes abreviaturas: s (singlete), d (doblete), dd (doble doblete), ddd (doble doble doblete), t (triplete), c (cuadruplete), q (quintuplete) y m (multiplete). Para los singletes anchos se dará el desplazamiento químico del centro de la señal.

Todas las asignaciones están apoyadas por experimentos bidimensionales. Los siguientes acrónimos serán empleados para nombrar experimentos de RMN con secuencia de pulsos menos usuales: COSY (*Correlated Spectroscopy*), DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*), HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*), NOE (*Nuclear Overhauser Effect*), NOESY (*Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*) y TOCSY (*Total Correlation Spectroscopy*).

- **Puntos de Fusión**

Los puntos de fusión (P.f.) se midieron en un microscopio *Kofler* marca *Reichert* y no están corregidos.

- **Actividad Óptica**

Las rotaciones ópticas ($[\alpha]_D$) se midieron a t. a. en un polarímetro *Perkin-Elmer 241* con una lámpara de Na ($\lambda = 589$ nm), utilizando una célula de cuarzo de 1 dm de longitud y 1 ml de capacidad. En cada caso se indica el disolvente y la concentración (c en g/100 ml) utilizados.

- ***Espectroscopia de Infrarrojo***

Los espectros de infrarrojo (IR) se registraron con los espectrofotómetros *Perkin-Elmer* modelos 681 y *FT-IR Spectrum One*, y las frecuencias (ν) de los máximos de absorción se expresan en cm^{-1} . Las muestras se analizaron como películas entre cristales de NaCl (film) o en pastillas de KBr.

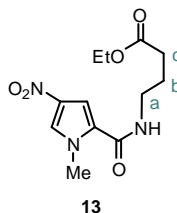
- ***Espectrometría de Masas***

Los espectros de masas de baja resolución (*LRMS*) se registraron en un espectrómetro *Hewlett Packard LCMS 1100 MSD* (analizador cuadrupolar acoplado a un HPLC) usando las técnicas de ionización química por electroespray (*API-ES*) en sus modos positivo o negativo, aplicando un voltaje capilar de 4000 V, una temperatura de secado de 330 °C y usando como portador una mezcla [1:1] $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ con 1% AcOH. Los datos obtenidos están expresados en unidades de masa (m/z). Se especifica el pico molecular como M^+ .

Los espectros de masas Maldi-Tof se realizaron en el Instituto de Quimicafísica Rocasolano en un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo con ionización por láser asistida por matriz (MALDI-TOF) modelo Voyaguer-DE PRO (Applied Biosystems).

- ***Análisis Elemental***

Los análisis elementales (A.E.) se efectuaron en el Departamento de Análisis Instrumental del Instituto de Química Orgánica General (C.S.I.C.) con los analizadores *Perkin-Elmer 240C* y *Heraeus CHN-O-Rapid*. Los datos calculados y observados se expresan en tantos por ciento.

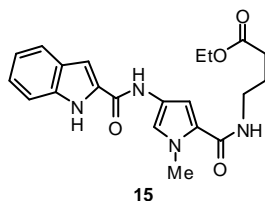
Síntesis de glico-oligoamidas**1. Preparación de glico-oligoamidas Tipo I****1.1. Preparación de EtO- γ -Py(A)-NO₂³ (13)**

A una disolución de 2,2,2-tricloro-1-(1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-il)etanona (**11**)⁴ (20.0 g, 0.074 mol) y clorhidrato de 4-aminobutirato de etilo (**12**) (15.0 g, 0.088 mol) en AcOEt (200 ml) se añade lentamente Et₃N (30 ml, 0.221 mol). La disolución resultante se agita a t. a. durante 4 h. Transcurrido ese tiempo, se filtra para eliminar el clorhidrato de la Et₃N que ha precipitado, se evapora el disolvente y se obtiene el producto deseado puro como un sólido blanco. Cantidad de producto obtenido: 22.0 g. R = 99%. **P.f.** = 68-70 °C. **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃):** δ 1.26 (t, J = 7.2 Hz, CH₃, 3H), 1.94 (t, J = 6.6 Hz, CH₂ γ_b , 2H), 2.44 (t, J = 6.6 Hz, CH₂ γ_c , 2H), 3.43 (c, J = 6.6 Hz, CH₂ γ_a , 2H), 3.98 (s, CH₃, 3H), 4.16 (c, J = 7.2 Hz, CH₂, 2H), 6.59 (sa, NH, 1H), 7.09 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.55 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H). **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃):** δ 14.0 (CH₃), 24.2 (CH₂), 31.8 (CH₂), 37.8 (CH₃), 39.1 (CH₂), 60.7 (CH₂), 106.9 (CH), 126.4 (C), 126.6 (CH), 134.7 (C), 160.4 (CO), 173.7 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 284 [M + H]⁺, 306 [M + Na]⁺. **Análisis elemental** calculado para C₁₂H₁₇N₃O₅: C: 50.88%; H: 6.05%; N: 14.83%. Hallado: C: 51.02%; H: 6.05%; N: 15.10%.

³ Xiao, J.; Yuan, G.; Huang, W.; Chan, A. S. C.; Lee, K.-L. D. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5506-5513.

⁴ Braid, E. E.; Dervan, P. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6141-6146.

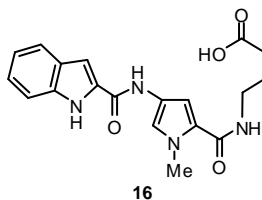
1.2. Preparación de EtO- γ -Py(A)-Ind (15)



Formación de la amina: A una mezcla de EtO- γ -Py(A)-NO₂ (13) (22.0 g, 0.077 mol) y Pd/C (5.5 g, 5%) en AcOEt/etanol (200 ml/200 ml) a 0 °C se añade NaBH₄ (8.7 g, 0.231 mol) en H₂O (80 ml). La mezcla resultante se agita la reacción a t. a. durante 3 h. Transcurrido este tiempo, se filtra sobre tierra de diatomeas para eliminar el Pd/C y se evapora el disolvente a presión reducida. Este crudo de reacción se añade al ácido previamente activado en CH₂Cl₂ (100 ml). Se supone que el rendimiento de la reducción es cuantitativo para los cálculos de los reactivos de la reacción de formación del enlace amídico. **Activación del ácido:** A una disolución de indol (16.0 g, 0.098 mol), DMAP (12.0 g, 0.098 mol), HOBT (13.2 g, 0.098 mol) en CH₂Cl₂ anhidro (200 ml) se añade DIPC (15.0 ml, 0.098 mol). La disolución resultante se agita a t. a. durante 7 h. Tras la adición de la amina, la disolución resultante se agita la a t. a. durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se lava con HCl (1M) y se extrae con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO₃ y con una disolución saturada de NaCl. El crudo obtenido se purifica por columna cromatográfica en SiO₂: primera columna en hexano/acetona (2:1) y segunda columna en hexano/acetona (1:1). El producto obtenido está parcialmente impurificado con DIPU. R = 70% **P.f.** = 165-166 °C. **¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.18 (t, J = 7.0 Hz, CH₃, 3H), 1.74-1.76 (m, CH₂ γ_b , 2H), 2.33 (t, J = 7.4 Hz, CH₂ γ_c , 2H), 3.21 (c, J = 6.0 Hz, CH₂ γ_a , 2H), 3.83 (s, CH₃, 3H), 4.05 (c, J = 7.0 Hz, CH₂, 2H), 6.88 (d, J = 1.8 Hz, CH Py,

1H), 7.05 (t, $J = 7.5$ Hz, CH Ind, 1H), 7.19 (t, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 7.28-7.30 (m, CH x 2, 2H), 7.46 (d, $J = 7.8$ Hz, CH Ind, 1H), 7.65 (d, $J = 7.8$ Hz, CH Ind, 1H), 8.11 (t, $J = 5.8$ Hz, NH, 1H), 10.31 (s, NH, 1H), 11.31 (s, NH, 1H). **^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO- d_6):** δ 14.1 (CH₃), 24.8 (CH₂), 31.1 (CH₂), 36.1 (CH₃), 37.8 (CH₂), 59.8 (CH₂), 102.8 (CH), 104.1 (CH), 112.3 (CH), 118.2 (CH), 119.8 (CH), 121.6 (CH), 121.7 (C), 123.2 (C), 123.4 (CH), 127.2 (C), 131.7 (C), 136.6 (C), 158.3 (CO), 161.3 (CO), 172.8 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 397 [M + H]⁺, 419 [M + Na]⁺, 816 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 1717, 1653, 1640. **Análisis elemental** calculado para **C₂₁H₂₄N₄O₄**: C: 63.62%; H: 6.10%; N: 14.13%. Hallado: C: 63.50%; H: 6.10%; N: 14.00%.

1.3. Preparación de HO- γ -Py(A)-Ind (16)

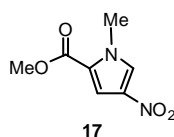


A una disolución de **EtO- γ -Py(A)-Ind (15)** (9.0 g, 0.023 mol) en THF (120 ml) se añade LiOH·H₂O (6.3 g, 0.154 mol) disuelto en una mezcla THF/H₂O (70 ml/70 ml). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 12 h. Transcurrido este tiempo, se neutraliza con HCl (1M) y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (para quitar el DIPU) y posteriormente en AcOEt/metanol (4:1) para eluir el ácido de la columna que se queda retenido. Cantidad de producto obtenido como un sólido blanco: 8.0 g. R = 95%. **P.f.** = 196-199 °C; **^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6):** δ 1.70-1.74 (m,

CH₂γ_b, 2H), 2.23 (t, $J = 7.3$ Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.19 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 12.6$ Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.83 (s, CH₃, 3H), 6.90 (d, $J = 1.9$ Hz, H-3 Py, 1H), 7.04 (ddd, $J = 0.8$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 7.9$ Hz, H-5 Ind, 1H), 7.19 (ddd, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 8.1$ Hz, H-6 Ind, 1H), 7.30 (m, H-3 Ind y H-5 Py, 2H), 7.46 (d, $J = 8.3$ Hz, H-7 Ind, 1H), 7.64 (d, $J = 8.0$ Hz, H-4 Ind, 1H), 8.20 (t, $J = 5.0$ Hz, NH-3, 1H), 10.42 (s, NH-2, 1H), 11.74 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 24.9 (CH₂γ_b), 32.0 (CH₂γ_c), 36.0 (CH₃), 38.1 (CH₂γ_a), 102.9 (C-3 Ind), 104.0 (C-3 Py), 112.2 (C-7 Ind), 118.0 (C-5 Py), 119.7 (C-5 Ind), 121.4 (C-4 Ind), 121.6 (C), 123.2 (C), 123.3 (C-6 Ind), 127.1 (C), 131.7 (C), 136.6 (C), 158.1 (CO), 161.1 (CO), 175.0 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 369 [M + H]⁺, 391 [M + Na]⁺, 759 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3137, 2928, 1718, 1511, 1317, 1100, 847. **Análisis elemental** calculado para C₁₉H₂₀N₄O₄: C: 61.95%; H: 5.47%; N: 15.21%. Hallado: C: 61.67%; H: 5.31%; N: 15.40%.

1.4. Preparación de los equivalentes sintéticos del pirrol B (Estructura V)

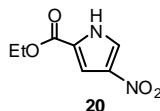
1.4.1. Preparación de MeO-Py(B)-NO₂⁴ (17)



Una disolución de CCl₃O-Py(B)-NO₂⁴ (**11**) (10.0 g, 0.037 mol) en metanol anhidro (100 ml) se trata con NaOMe (384.0 mg, 0.007 mol). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido este tiempo, se adiciona HCl (50 ml, 1M) obteniéndose un precipitado blanco. Tras filtración se obtiene 1-metil-4-nitropirrol-2-carboxilato de metilo (**17**): 6.0 g, R = 88%, como un sólido

blanco. $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 3.86 (s, CH_3 , 3H), 3.98 (s, CH_3 , 3H), 7.41 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.60 (d, $J = 1.0$ Hz, CH Py, 1H).

1.4.2. Preparación de EtO-Py(B)-NO₂⁵ (20)



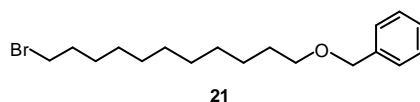
Una disolución de NaNO_2 (25.0 g, 0.362 mol) en H_2O (37.5 ml) se agita hasta total disolución. Se calienta a 50 °C. Se añade lentamente el ácido mucobromico (**23**) (25.0 g, 0.097 mol) en etanol (37.5 ml). La adición tarda 2 horas. Se enfría el matraz a 0 °C, se produce un precipitado que se redissuelve en una mezcla etanol/ H_2O (60:15), cuando está totalmente disuelto se precipita de nuevo a 0 °C. Se filtra el precipitado. Cantidad de producto obtenido: 7.2 g. R = 54%.

La sal sódica (**24**) obtenida de esta reacción (7.2 g, 0.0516 mol) y el del éster etílico de glicina (**25**) (7.2 g, 0.0516 mol) se disuelven en etanol (26.7 ml). La reacción se calienta a 50 °C y añade lentamente una disolución acuosa de NaOH al 20% (3.9 ml). La adición tarda 40 minutos. La disolución resultante se agita a 50 °C durante 1 h. y 30 min. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (1M) y se extrae con CH_3Cl . Se separan las fases y la fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO_3 y con una disolución saturada de NaCl. Se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (3:1). R = 48%. $^1\text{H-RMN}$ (300MHz, CDCl_3): δ 1.39 (t, $J = 7.1$ Hz, CH_3 , 3H), 4.38 (c, $J = 7.1$ Hz, CH_2 , 2H), 7.38 (sa, CH Py, 1H), 7.75 (sa, CH Py, 1H), 9.5 (sa, NH, 1H).

⁵ a) Morgan, K.J.; Morrey, D. P. *Tetrahedron*, **1966**, 22, 57-62. b) Lee, M.; Coulter, D. M.; Lowm J. W. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1855-1859.

E. M. (ES +) m/z: 185.0 $[M + H]^+$, 207.0 $[M + Na]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3434, 3269, 1700, 1687, 1507, 1322. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$: C: 45.66%; H: 4.38%; N: 15.21%; O: 34.75%. Hallado: 45.67%; H: 4.24%; N: 14.99%.

1.4.3. Preparación de $\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{OBn}^6$ (**21**)

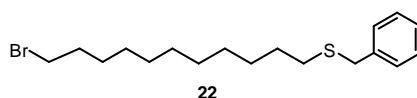


En un matraz de 500 ml se pesa NaH (60%), (2.4 g, 0.060 mol), y se lava con hexano bajo atmósfera inerte. Se retira el hexano y se seca bien pasando una corriente de argón. Se añaden 15 ml de THF anhidro y se pone la disolución a 0°C. Se añade lentamente 11-bromo-1-undecanol (**27**) (15.0 g, 0.060 mol) disuelto en THF (30 ml). Se observa un burbujeo. Tras 15 minutos agitando a 0°C se añade bromuro de bencilo (**26**) (11.0 g, 0.066 mol) en THF (15 ml). La disolución resultante se agita a t. a. 6 días. Transcurrido este tiempo se lava con una disolución de HCl (1M) y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO_3 y una disolución saturada de NaCl. Se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B): A/B 100:0, A/B 60:1, A/B 30:1, B (100%). Cantidad de 1-benciloxi-11-bromoundecano (**21**): 14.0 g (aceite). R = 70%. **^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3):** δ 1.24-1.48 (m, $\text{CH}_2 \times 7$, 14H), 1.56-1.67 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 2H), 1.78-1.91 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, 2H), 3.41 (t, $J = 6.9$ Hz, CH_2O , 2H), 3.47 (t, $J = 6.6$ Hz, CH_2Br , 2H), 4.51 (s, CH_2 Bn, 2H), 7.24-7.37 (m, CH \times 5

⁶ Cloux, R.; Défayes, G.; Fóti, K.; Dutoit, J.-C.; Kováts, E.; *Synthesis*, **1993**, 909-919.

Bn). ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 26.2 (CH_2), 28.2 (CH_2), 28.6 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.4 ($\text{CH}_2 \times 2$), 29.4 (CH_2), 30.4 (CH_2), 32.8 (CH_2), 33.0 (CH_2Br), 70.4 (CH_2O), 72.8 (CH_2 Bn), 125.8 (CH Bn), 127.4 ($\text{CH} \times 2$ Bn), 128.2 ($\text{CH} \times 2$ Bn), 138.6 (C Bn). E. M. (ES +) m/z: 685.7 $[2\text{M} + 2\text{H}]^+$, 686.7 $[2\text{M} + 3\text{H}]^+$. IR (KBr) (cm^{-1}): 3070-3600, 3060, 3030, 2927, 2854, 1495, 1454, 1395, 1274, 1102, 1028, 734, 697. Análisis elemental calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{BrO}$: C: 63.34%; H: 8.56%; Br: 23.41%; O: 4.69%. Hallado: 63.18%; H: 8.35%; Br: 23.61%.

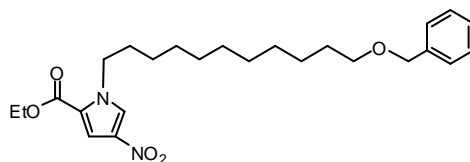
1.4.4. Preparación de $\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{SBn}$ (22)



A una disolución de NaOMe (64 mg, 1.185 mmol) en MeOH a 0 °C se añade fenilmetanotiol (28) (93 μl , 0.79 mmol) en MeOH y se agita a esa temperatura 15 min. Transcurrido este tiempo, se añade lentamente 1,11-dibromoundecano (29) (374 μl , 1.59 mmol) en MeOH. La temperatura se deja subir lentamente hasta t. a. y se agita 48 h. Transcurrido este tiempo, se lava con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$, se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se evapora el disolvente a presión reducida, purificación por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (30:1) y se obtiene el producto $\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{SBn}$ (22): 356 mg (aceite). R = 84%. ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 1.00-1.60 (m, $\text{CH}_2 \times 8$, 16H), 1.86 (t, J = 6.7 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, 2H), 2.41 (t, J = 6.8 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$, 2H), 3.41 (t, J = 6.5 Hz, CH_2Br , 2H), 3.70 (s, $\text{SCH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)$, 2H), 7.2-7.4 (m, $\text{CH} \times 5$ Bn, 5H). ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 28.2 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.8 (CH_2), 29.2 ($2 \times \text{CH}_2$), 29.4 ($3 \times \text{CH}_2$), 31.2 (CH_2), 32.8 (CH_2), 34.1 (CH_2), 36.3 (CH_2), 126.8 (CH), 128.4 ($2 \times \text{CH}$),

128.8 ($2 \times \text{CH}$), 138.7 (C). **E. M. (ES +) m/z:** 356 $[\text{M}]^+$, 357 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 380 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 401 $[\text{M} + \text{H} + \text{CO}_2]^+$.

1.4.5. Preparación de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (18)**

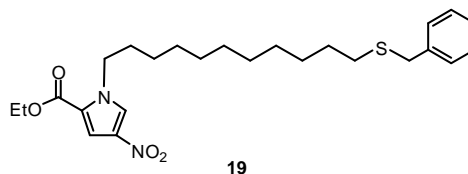


18

A una suspensión de **EtO-Py(B)-NO₂ (20)** (975 mg, 5.3 mmol), K₂CO₃ (2.2 g, 159.0 mmol), y Bu₄N⁺Br⁻ (1.7 mg, 0.005 mmol) en acetonitrilo (15 ml) se añade lentamente **Br(CH₂)₁₁OBn (21)** (2.1 g, 6.4 mmol) disuelto en 15 ml de acetonitrilo. Se agita 96 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (1M) y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO₃ y con una disolución saturada de NaCl. Se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente. El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B): A/B 20:1, A/B 3:1. Cantidad de compuesto obtenido: 1.5 g. R = 65%. **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃):** δ 1.22-1.42 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, CH₃, 3H), 1.53-1.67 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.71-1.86 (m, CH₂CH₂N, 2H), 3.46 (t, J = 6.6 Hz, CH₂O, 2H), 4.32 (c, J = 7.1 Hz, J = 7.1 Hz, CH₂, 2H), 4.27-4.37 (m, CH₂N, 2H), 4.50 (s, CH₂ Bn, 2H), 7.24-7.39 (m, CH \times 5 Bn, 5H), 7.43 (d, J = 2.0 Hz, CH Py), 7.61 (d, J = 2.0 Hz, CH Py). **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃):** δ 14.2 (CH₃ EtO), 26.1 (CH₂), 26.4 (CH₂), 29.0 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.4 (CH₂ \times 2), 29.4 (CH₂), 29.7 (CH₂), 31.1 (CH₂), 50.4 (CH₂), 60.8 (CH₂), 70.5 (CH₂), 72.8 (CH₂), 113.0 (CH Py), 122.4 (CH Py), 126.6 (C), 127.4 (C), 127.5

(CH \times 2 Bn), 127.6 (C), 128.3 (CH \times 2 Bn), 138.7 (C), 159.9 (CO). **E. M. (ES +)** **m/z**: 445.3 [M + H]⁺, 467.1 [M + Na]⁺, 483.1 [M + K]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 3137, 2928 (CH₂), 1718 (CO), 1511 NO₂, 1317, 1100, 847. **Análisis elemental** calculado para **C₂₅H₃₆N₂O₅**: C: 67.54%, H: 8.16%, N: 6.30%. Hallado: C: 67.29%, H: 7.93%, N: 6.32%.

1.4.6. Preparación de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂ (19)**

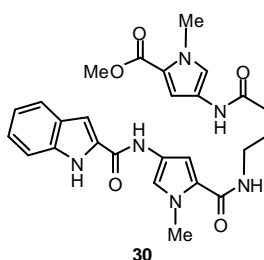


A una suspensión de **EtO-Py(B)-NO₂ (20)** (225 mg, 1.220 mmol), K₂CO₃ (5.1 g, 36.6 mmol) y Bu₄N⁺Br⁻ (3 mg, 0.012 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se añade gota a gota una disolución de **Br(CH₂)₁₁SBn (22)** (436 mg, 1.220 mmol) en acetonitrilo (2 ml). La reacción se agita 24 h. a 50 °C. Transcurrido este tiempo, se lava con HCl (1M) y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ y se filtra. Se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (50:1). Se obtiene el producto deseado **EtO-Py[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂: (20)**: 350 mg (aceite). R = 63%. **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)**: δ 1.20-1.39 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.36 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₃ EtO, 3H), 1.48-1.60 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.72-1.84 (m, CH₂CH₂N, 2H), 2.40 (t, *J* = 7.3 Hz, CH₂S, 2H), 3.70 (s, CH₂ Bn, 2H), 4.32 (c, *J* = 7.1 Hz, *J* = 7.1 Hz, CH₂, 2H), 4.27-4.37 (m, CH₂N, 2H), 7.20-7.32 (m, CH \times 5 Bn, 5H), 7.43 (d, *J* = 2.0 Hz, CH Py), 7.61 (d, *J* = 2.0 Hz, CH Py). **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ 14.2 (CH₃), 26.4 (CH₂), 28.8 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.4 (CH₂ \times 2), 29.4 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.4

(CH₂), 36.6 (CH₂), 50.4 (CH₂), 60.9 (CH₂), 113.0 (CH Py), 122.5 (CH Py), 122.5 (C), 126.6 (CH), 126.8 (CH), 128.4 (CH × 2 Bn), 128.8 (CH × 2 Bn), 135.3 (C), 138.7 (C), 160.0 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 461.3 [M + H]⁺, 462.2 [M + 2]⁺, 499.3 [M + K]⁺, 500.3 [M + 1 + K]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3137, 2928, 1718, 1511, 1317, 1100, 847.

1.5. Preparación de los ésteres X-Py[R]-γ-Py-Ind (30 (X = MeO-, R = -Me) 31 (X = EtO-, R = -(CH₂)₁₁OBn), 32 (X = EtO-, R = -(CH₂)₁₁SBn)

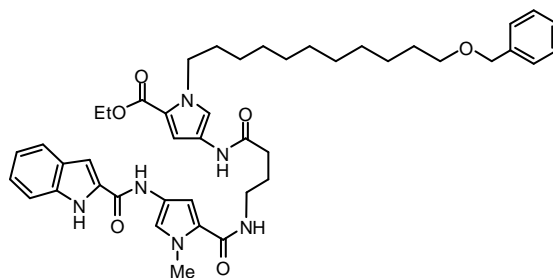
1.5.1. Preparación del MeO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (30)



Una disolución de **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** (1.45 g, 3.9 mmol) y HOBt (0.54 g, 3.9 mmol) en DMF anhidra bajo atmósfera de argón, se añade DIPC (0.62 ml, 3.9 mmol) y se agita a t. a. durante 18 h. Paralelamente se realiza la reducción del grupo NO₂ a NH₂ de **MeO-Py(B)-NO₂ (17)**: una mezcla de **MeO-Py(B)-NO₂ (17)** (0.72 g, 3.0 mmol) y Pd/C (5%) (0.70 g) en AcOEt/metanol (10ml:10ml) se agita durante 10 a 0 °C. A esta mezcla se añade lentamente una disolución acuosa (5 ml) de NaBH₄ (0.35 g, 9.2 mmol). Se agita la reacción 30 min. a t. a. Transcurrido este tiempo, se filtra sobre tierra diatomeas para eliminar el Pd/C y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se disuelve en DMF (10 ml) y se añade a la reacción de activación del ácido. La mezcla de reacción se agita 24h. a

t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución saturada de CuSO_4 y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía con gradiente de polaridad hexano(A)/acetona(B): A/B 2:1 para eluir el DIPU y A/B 1:1 para eludir el producto. Cantidad de producto obtenido: 1.2 g (sólido blanco). R = 62%. **^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6):** δ 1.80 (t, J = 7.2 Hz, $\text{CH}_2\gamma_b$, 2H), 2.28 (t, J = 7.2 Hz, $\text{CH}_2\gamma_c$, 2H), 3.23 (c, J = 6.6 Hz, $\text{CH}_2\gamma_a$, 2H), 3.7 (s, CH_3 , 3H), 3.8 (s, CH_3 , 3H), 3.8 (s, CH_3 , 3H), 6.7 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.9 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.05 (dt, J = 0.7 Hz, J = 7.9 Hz, CH Ind, 1H), 7.2 (dt, J = 1.0 Hz, J = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.29 (d, J = 1.7 Hz, 2H), 7.36 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.46 (dd, J = 0.6 Hz, J = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.65 (d, J = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 8.10 (t, J = 5.6 Hz, NH, 1H), 9.91 (sa, NH, 1H), 10.33 (sa, NH, 1H), 11.63 (d, J = 1.4 Hz, NH, 1H). **^{13}C -RMN (100 MHz, DMSO- d_6):** δ 25.6 (CH_2), 33.3 (CH_2), 36.1 (CH_3), 36.2 (CH_3), 38.2, (CH_2) 51.0 (OCH_3), 102.9 (CH Ind), 104.2 (CH Py), 107.7 (CH Py), 112.4 (CH Ind), 118.1 (C), 118.6 (CH Py), 119.9 (CH Ind), 120.5 (CH Py), 121.6 (CH Ind), 121.7 (C), 122.8 (C), 123.3 (C), 123.5 (CH Ind), 127.2 (C), 131.6 (C), 136.6 (C), 158.2 (CO), 160.7 (CO), 161.2 (CO), 169.4 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 505 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 528 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3434, 3289, 1691, 1648, 1577, 1555, 1447, 1254. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_5$: C: 61.89%; H: 5.59%; N: 16.66%. Hallado: C: 61.74%; H: 5.60%; N: 16.85%.

1.5.2. Preparación del **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (31)**



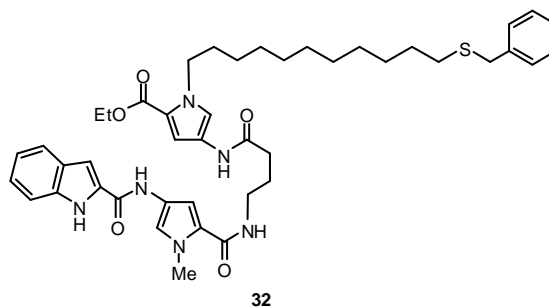
31

El éster **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (31)** se prepara por el mismo procedimiento empleado para el éster **MeO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (30)**⁷ a partir de **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** (1.450 g, 3.9 mmol) y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (18)** (1.4 g, 3.0 mmol). El producto se purifica por cromatografía con gradiente de polaridad hexano(A)/acetona(B): A/B 2:1 para eluir el DIPU y A/B 1:1 para eludir el producto. Cantidad de producto obtenido: 1.9 g. R = 65%. **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.20-1.42 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, CH₃ EtO, 3H), 1.52-1.64 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.66-1.79 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.88-1.95 (m, CH₂ γ, 2H), 2.40 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.35-3.42 (m, CH₂ γ, 2H), 3.46 (t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 4.22 (c, *J* = 7.1 Hz, *J* = 7.1 Hz, CH₂, 2H), 4.28-4.35 (m, CH₂N, 2H), 4.48 (s, CH₂ Bn, 2H), 6.79 (d, *J* = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 6.91 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 0.9 Hz, H-5 Ind, 1H), 7.19 (d, *J* = 1.5 Hz, H-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 1.1 Hz, H-6 Ind, 1H), 7.31 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.32-7.36 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.51 (d, *J* = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 7.57 (d, *J* = 7.5 Hz, H-7 Ind, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.1 Hz, H-4 Ind, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.4 Hz, NH-3, 1H), 9.30 (s, NH-4, 1H), 9.67 (s, NH-2, 1H), 10.82 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (400 MHz, acetona-d₆):**

⁷ Sección 1.5.1. Preparación del **MeO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (30)**

δ 15.4 (CH₃), 27.6 (CH₂ γ_b), 27.9 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.12-31.17 (CH₂ \times 6), 33.1 (CH₂CH₂O), 35.2 (CH₂ γ_c), 37.3 (CH₃), 40.1 (CH₂ γ_a), 50.1 (CH₂N), 60.8 (CH₂), 71.6 (CH₂O), 73.8 (CH₂ Bn), 103.7 (CH Ind), 105.0 (CH Py), 109.4 (CH Py), 113.7 (CH Ind), 119.6 (CH Py), 120.3 (C), 121.1 (CH Py), 121.6 (CH Ind), 123.2 (CH Ind), 123.8 (C), 124.6 (C), 124.7 (C), 125.2 (CH Ind), 128.69 (CH Bn), 128.9 (CH \times 2 Bn), 129.5 (C), 129.7 (CH \times 2 Bn), 133.3 (C), 138.5 (C), 140.7 (C), 159.9 (CO), 162.0 (CO), 163.2 (CO), 171.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 765.3 [M + H]⁺, [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3286, 2925, 1700, 1577, 1530, 1258, 1091, 811, 747. **Análisis elemental** calculado para **C₄₄H₅₆N₆O₆**: C: 69.09%; H: 7.38%; N: 10.99%; O: 12.55%. Hallado: C: 68.79%; H: 7.27%; N: 11.01%.

1.5.3. Preparación de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (32)**



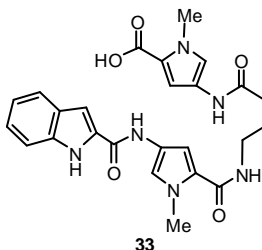
El éster **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (32)** se prepara por el mismo procedimiento empleado para el éster **MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (30)**⁸ a partir de **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** (96 mg, 0.26 mmol) y **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-NO₂ (19)** (100 mg, 0.28 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (40:1). Cantidad de producto obtenido: 50 mg. R = 32%. ¹H-

⁸ Sección 1.5.1. Preparación del **MeO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (30)**

RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1.16-1.29 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.30 (t, J = 7.0 Hz, CH₃, 3H), 1.45-1.58 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.60-1.80 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.83-1.92 (m, CH₂ γ_b , 2H), 2.35 (t, J = 6.4 Hz, CH₂ γ_c , 2H), 2.39 (t, J = 7.3 Hz, CH₂S, 2H), 3.43-3.45 (m, CH₂ γ_a , 2H), 3.70 (s, CH₃, 3H), 3.90 (s, CH₂Bn, 2H), 4.20 (m, CH₂N, 2H), 4.24 (c, J = 7.2 Hz, J = 14.2 Hz, CH₂, 2H), 6.39 (t, J = 6.0 Hz, NH, 1H), 6.62 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.81 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.10 (sa, CH Ind, 1H), 7.14 (t, J = 7.5 Hz, CH Ind, 1H), 7.21 (d, J = 0.8 Hz, CH Py, 1H), 7.26-7.30 (m, CH \times 5 Bn + CH Ind, 6H), 7.30 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.37 (d, J = 8.3 Hz, CH Ind, 1H), 7.43 (d, J = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 8.47 (s, NH, 1H), 8.63 (s, NH, 1H), 9.56 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃):** δ 14.3 (CH₃), 25.9 (CH₂), 26.2 (CH₂ γ_b), 26.6 (CH₂), 28.8 (CH₂), 29.2 (2 \times CH₂), 29.4 (3 \times CH₂), 29.7 (CH₂), 31.4 (CH₂S), 33.9 (CH₂ γ_c), 36.3 (CH₃, Me), 36.5 (CH₂ Bn), 38.7 (CH₂ γ_a), 49.2 (CH₂N), 59.9 (CH₂), 103.7 (CH Ind), 104.2 (CH Py), 108.7 (CH Py), 111.9 (CH), 119.3 (C), 119.5 (CH), 119.9 (CH), 120.7 (CH), 121.1 (C), 121.9 (C), 122.0 (CH), 123.3 (C), 124.6 (CH), 126.8 (CH), 127.6 (C), 128.4 (2 \times CH), 128.7 (CH \times 2), 130.7 (C), 136.6 (C), 138.6 (C), 159.3 (CO), 160.9 (CO), 162.4 (CO), 170.5 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 781.3 [M + H]⁺, 782.3 [M + 2]⁺, 782.3 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3285, 2927, 1700 y 1638 (CO), 1577, 1537, 1404, 1250.

1.6. Preparación de los ácidos HO-Py(B)[R]-γ-Py(A)-Ind (33 (R = -Me), 34 (R = -(CH₂)₁₁OBn), 35 (R = -(CH₂)₁₁SBn))

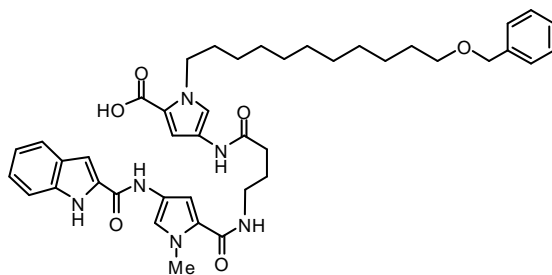
1.6.1. Preparación del HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)



A una disolución de **MeO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (30)** (700 mg, 1.387 mmol) en dioxano (20 ml) se añade lentamente una disolución de LiOH·H₂O (0.398 g, 9.709 mmol). Se agita a t. a. durante una semana. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (1M) hasta pH neutro y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía con gradiente de polaridad de CH₂Cl₂(A)/MeOH(B): A/B 8:1 a A/B 5:1. Cantidad de producto obtenido: 620 mg (sólido blanco). R = 91%. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.76-1.78 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.27-2.29 (m, CH₂γ_c, 2H), 3.17-3.19 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.78 (s, CH₃, 3H), 3.81 (s, CH₃, 3H), 6.64 (d, J = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, J = 1.8 Hz, CH, 1H), 7.05 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 7.0 Hz, J = 7.9 Hz, CH Ind 5, 1H), 7.2 (ddd, J = 1.1 Hz, J = 7.0 Hz, J = 8.1 Hz, CH Ind, 1H), 7.28 (sa, CH × 3, 3H), 7.46 (d, J = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.64 (d, J = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 8.24 (t, J = 5.3 Hz, NH, 1H), 10.26 (s, NH, 1H), 10.81 (s, NH, 1H), 11.99 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO-d₆): δ 25.7 (CH₂), 33.3 (CH₂), 36.1 (2 × CH₃), 38.2 (CH₂), 104.0 (CH), 104.3 (CH), 105.5 (CH), 112.3 (CH), 118.1 (CH), 119.4 (CH), 119.7 (CH), 121.5 (CH), 121.8 (2 × C), 122.5 (C), 123.2 (C), 123.3 (CH), 127.1 (C),

131.9 (C), 136.6 (C), 158.0 (CO), 161.3 (CO), 169.3 (CO), 170.4 (CO). **E. M.** (ES +) **m/z**: 491 [M + H]⁺, 513 [M + Na]⁺, 981 [2M + H]⁺, 1003 [2M + Na]⁺. **IR** (KBr) (cm⁻¹): 3440, 3280, 1699, 1650, 1560, 1556, 1437, 1250. **Análisis elemental** calculado para C₂₅H₂₆N₆O₅: C: 61.22%; H: 5.34%; N: 17.13%. Hallado: C: 61.28%; H: 5.30%; N: 17.15%.

1.6.2. Preparación del **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (34)**



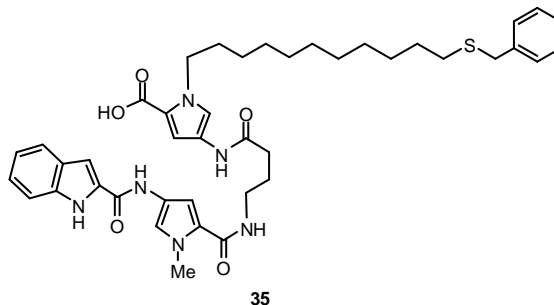
34

El compuesto **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (34)** se prepara por el mismo método que el compuesto **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**⁹ a partir de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (31)** (1.9 g, 2.4 mmol). El producto se purifica por cromatografía con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B)/MeOH(C): A/B/C 1:20:0, A/B/C 0:1:0 y A/B/C 0:40:1. Cantidad de producto obtenido: 1.5 g (Sólido blanco). R = 90%. **P.f.** = 115-117 °C; **¹H-RMN (400MHz, acetona-d₆)**: δ 1.29-1.43 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.54-1.64 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.65-1.79 (CH₂CH₂N, 2H), 1.91-1.93 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.41 (t, J = 7.0 Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.39 (dd, J = 6.3 Hz, J = 12.5 Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.46 (t, J = 6.4 Hz, CH₂O, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 4.32 (t, J = 7.3 Hz, CH₂N, 2H), 4.48 (s, CH₂ Bn, 2H), 6.81 (d, J = 1.8 Hz, CH-3 Py(B), 1H), 6.92 (d, J = 1.6 Hz, CH-3 Py(A), 1H), 7.08 (t, J = 7.8 Hz,

⁹ Sección: 1.6.1. Preparación del **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**

CH-5 Ind, 1H), 7.20 (d, $J = 1.1$ Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (t, $J = 7.3$ Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.31 (d, $J = 1.2$ Hz, CH-5 Py(A), 1H), (7.32-7.34) (m, CH \times 5 Bn, 5H), 7.56 (d, $J = 1.7$ Hz, CH-5 Py(B), 1H), 7.56-7.57 (m, NH-3, 1H), 7.57 (d, $J = 8.1$ Hz CH-7 Ind, 1H), 7.63 (d, $J = 8.1$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 9.32 (s, NH-4, 1H), 9.68 (s, NH-2, 1H), 10.85 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (100 MHz, acetona- d_6):** δ 27.6 (CH_2), 28.1 (CH_2), 28.6 (CH_2), 30.0-31.0 ($\text{CH}_2 \gamma + \text{CH}_2 \times 5$), 33.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 35.7 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.8 (CH_3), 40.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 50.5 (CH_2N), 72.1 (CH_2O), 74.3 (CH_2 Bn), 104.1 (CH Ind), 105.4 (CH Py), 110.2 (CH Py), 114.1 (CH Ind), 120.1 (CH Ind), 120.2 (C), 121.7 (CH Ind), 122.1 (CH Ind), 123.7 (C), 124.2 (C), 124.3 (C), 125.0 (C), 125.1 (C), 125.8 (CH Py), 129.2 (CH Bn), 129.4 (CH \times 2 Bn), 129.9 (C), 130.2 (CH \times 2 Bn), 133.7 (C), 138.8 (C), 141.3 (C), 163.2 (CO), 171.5 (CO), 171.6 (CO). **E. M. (ES $^-$) m/z:** 735.3 [M - H] $^-$, 736.3 [M] $^-$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3434, 2927, 2252, 2126, 1703, 1663, 1537, 1234, 1053, 1027, 1006, 823, 761. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_6$: C: 68.46%; H: 7.11%; N: 11.40%; O: 13.03%. Hallado: C: 68.15%; H: 7.26%; N: 11.54%.

1.6.3. Preparación de HO-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{SBn}$]- γ -Py(A)-Ind (35)

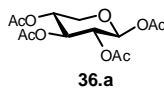


El compuesto **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (35)** se prepara por el mismo método que el compuesto **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**¹⁰ a partir de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]-γ-Py(A)-Ind (32)** (230 mg, 0.294 mmol). El producto se purifica por cromatografía con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B)/MeOH(C) A/B/C 1:20:0, A/B/C 0:1:0 y A/B/C 1:40:1. Cantidad de producto obtenido: 210 mg. R = 85%. **¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD):** δ 1.1-1.35 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.40-1.60 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.6-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.87-2.34 (m, CH₂γ, 2H), 2.26-2.44 (m, CH₂S + CH₂γ, 4H), 3.46 (c, *J* = 7.0 Hz, CH₂γ, 2H), 3.66 (s, CH₂Bn, 2H), 3.86 (s, CH₃, 3H), 4.14-4.26 (m, CH₂N, 2H), 6.79 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.02-7.10 (m, CH Ind, 1H), 7.17-7.32 (m, CH × 5 Bn + CH Ind × 2 + CH Py × 2, 9H), 7.37 (d, *J* = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.43 (dd, *J* = 3.4 Hz, *J* = 7.9 Hz, CH Ind, 1H). **¹³C-RMN (300 MHz, CD₃OD):** δ 26.9 (CH₂), 27.2 (CH₂), 27.6 (CH₂), 29.8 (CH₂), 30.2 (CH₂), 30.3 (CH₂), 30.5 (CH₂ × 2), 30.6 (CH₂), 30.7 (CH₂), 30.7 (CH₂), 32.7 (CH₂S), 34.8 (CH₂γ), 36.8 (CH₃), 36.9 (CH₂Bn), 39.9 (CH₂γ), 50.2 (CH₂N), 104.4 (CH Ind), 106.1 (CH Py), 110.4 (CH Py), 113.0 (CH Ind), 120.5 (CH Py), 121.2 (CH Py), 121.5 (C), 122.8 (CH Ind), 123.1 (C), 123.4 (C), 124.7 (C), 125.3 (CH Ind), 129.1 (C), 129.2 (CH Bn), 129.3 (CH × 2 Bn), 129.9 (CH × 2 Bn), 138.5 (C), 138.9 (C), 140.3 (C), 161.2 (CO), 163.9 (CO), 164.3 (CO), 172.7 (CO). **E. M. (ES⁻) m/z (%):** 751.1 [M - H]⁻, 752.1 [M]⁻, 753.1 [M + 1]⁻. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3391, 2971, 2927, 2862, 2500, 2239, 2072, 1631, 1577, 1454, 1407, 1118, 1049, 973, 876.

¹⁰ Sección: 1.6.1. Preparación del **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**

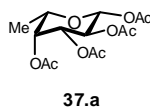
1.7. Preparación de los equivalentes sintéticos de las aminas III

1.7.1. Preparación de (AcO)₄- β -Xyl (36.a)



Una mezcla de D-xilosa (20.0 g, 133.2 mmol), NaOAc (5.0 g, 60.9 mmol) y Ac₂O (80.9 ml, 847.9 mmol) se calienta a reflujo hasta completa disolución. La disolución se enfría y se añade a una mezcla de hielo y agua (200 ml) y se agita vigorosamente durante 3 h. Se forma un precipitado que se filtra y se lava con agua. El sólido se recrystaliza en etanol 95% (150 ml) para obtener el compuesto (AcO)₄- β -Xyl (36.a)¹¹: 21.0 g. R = 80% (sólido blanco). P.f. = 124-126 °C, [α]_D = -27.2° (c = 1.0, CHCl₃); ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 2.05 (s, CH₃ \times 2, 6H), 2.06 (s, CH₃, 3H), 2.10 (s, CH₃, 3H), 3.52 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 12.0 Hz, CH, 1H), 4.14 (dd, *J* = 4.8 Hz, *J* = 12.0 Hz, CH, 1H), 4.95-4.99 (m, CH, 1H), 5.03 (dd, *J* = 6.9 Hz, *J* = 8.4 Hz, CH, 1H), 5.20 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 8.4 Hz, CH, 1H), 5.71 (d, *J* = 6.6 Hz, CH, 1H). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 20.6 (CH₃ \times 4), 62.8 (CH), 68.4 (CH), 69.6 (CH), 71.1 (CH), 92.1 (CH-1), 169.2 (CO \times 2), 169.7 (CO \times 2). E. M. (ES +) *m/z*: 336 [M + NH₄]⁺, 341 [M + Na]⁺, 659 [2M + Na]⁺. Análisis elemental calculado para C₁₃H₁₈O₉: C: 40.06%; H: 5.70%. Hallado: C: 48.77%; H: 6.00%.

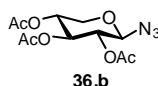
1.7.2. Preparación de (AcO)₄- β -L-Fuc (37.a)



¹¹ Lemieux, R. U.; Kullnig, R. K.; Bernstein, H. J.; Scheider, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6098-6105.

Una mezcla de L-fucosa (10.0 g, 60.9 mmol), NaOAc (2.5 g, 30.5 mmol) y Ac₂O (40.0 ml, 423.9 mmol) se calienta a reflujo hasta completa disolución. La disolución se enfría y se añade a una mezcla de hielo y agua (100 ml) y se agita vigorosamente durante 3 h. Se forma un precipitado que se filtra y se lava con agua. El producto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (7:3) para obtener el compuesto (AcO)₄-β-L-Fuc (**37.a**)¹²: 18.2 g. R = 90%. ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): δ 1.22 (d, *J* = 6.4 Hz, CH₃, 3H), 1.99 (s, CH₃, 3H), 2.04 (s, CH₃, 3H), 2.11 (s, CH₃, 3H), 2.19 (s, CH₃, 3H), 3.95 (dc, *J* = 1.0 Hz, *J* = 6.40 Hz, CH, 1H), 5.06 (dd, *J* = 3.3 Hz, *J* = 10.3 Hz, CH, 1H), 5.26 (dd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 3.3 Hz, CH, 1H), 5.29 (t, *J* = 8.2 Hz, CH, 1H), 5.68 (d, *J* = 8.2 Hz, CH, 1H), 5.21 (t, *J* = 9.5 Hz, CH, 1H). ¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 15.8 (CH₃), 20.0 (CH₃ × 2), 20.1 (CH₃), 20.1 (CH₃), 67.9 (CH), 69.9 (CH), 70.2 (CH), 71.2 (CH), 92.1(CH-1), 169.1 (CO), 169.4 (CO), 170.0 (CO), 170.4 (CO). E. M. (ES⁺): m/z: 350 [M + NH₄]⁺, 355 [M + Na]⁺, 687 [2M+Na]⁺.

1.7.3. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-N₃ (**36.b**)

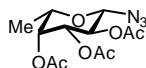


Una disolución de SnCl₄ (0.221 ml, 1.88 mmol) en tolueno (6.0 ml) se añade a una suspensión de AgClO₄ (390 mg, 1.88 mmol) en CH₂Cl₂ (65 ml) a t. a. La disolución se agita durante 1 h. en ausencia de luz. Esta mezcla se añade a otra disolución de (AcO)₄-β-Xyl (**36.a**) (6.0 g, 18.85 mmol) y trimetilsililazida (TMSN₃) (3.1 ml, 37.70 mmol) en CH₂Cl₂. La disolución se agita durante 3 h. Transcurrido este tiempo, la disolución se lava con NaHCO₃ saturado y se extrae con CH₂Cl₂, se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y

¹² Gyorgydeak, Z.; Szilagyi, L. *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 103-112.

se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (7:3) para obtener el compuesto **(AcO)₃-β-Xyl-N₃¹³ (36.b)** como un sólido blanco: 5.2 g. R = 91%. **P.f.** = 84-85 °C; **[α]_D** = -79.8° (c = 1.0, CHCl₃); **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃)**: δ 2.04 (s, CH₃, 3H), 2.05 (s, CH₃, 3H), 2.08 (s, CH₃, 3H), 3.43 (dd, *J* = 9.6 Hz, *J* = 11.7 Hz, CH, 1H), 4.21 (dd, *J* = 5.0 Hz, *J* = 11.7 Hz, CH, 1H), 4.63 (d, *J* = 8.0 Hz, CH-1, 1H), 4.87 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 8.8 Hz, CH, 1H), 4.97-5.01 (m, CH, 1H), 5.19 (t, *J* = 8.8 Hz, CH, 1H). **¹³C-RMN (200 MHz, CDCl₃)**: δ 20.6 (CH₃ × 2), 20.7 (CH₃), 64.2 (CH), 68.3 (CH), 70.3 (CH), 71.4 (CH), 88.3 (CH-1), 169.3 (CO), 169.7 (CO), 170.0 (CO). **E.M. (ES+) m/z**: 319 [M + NH₄]⁺, 324 [M + Na]⁺, 625 [2M + Na]⁺. **Análisis elemental** calculado para **C₁₁H₁₅O₇N₃**: C: 43.86%; H: 5.02%, N: 13.95%. Hallado: C: 43.80%; H: 4.98%, N: 13.89%.

1.7.4. Preparación de **(AcO)₃-β-L-Fuc-N₃ (37.b)**



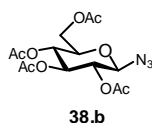
37.b

El compuesto **(AcO)₃-β-L-Fuc-N₃ (37.b)** se prepara por el mismo procedimiento que el compuesto **(AcO)₃-β-Xyl-N₃ (36.b)¹⁴** a partir de **(AcO)₄-β-Fuc (37.a)**. R = 85 %. **[α]_D** = 10.8° (c = 0.25, metanol); **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)**: δ 1.25 (d, *J* = 6.6 Hz, CH₃, 3H), 1.98 (s, CH₃CO, 3H), 2.08 (s, CH₃CO, 3H), 2.19 (s, CH₃CO, 3H), 3.90 (dc, *J* = 6.3 Hz, *J* = 1.2 Hz, CH-5, 1H), 4.58 (d, *J* = 8.4 Hz, CH-1, 1H), 5.02 (dd, *J* = 10.2 Hz, *J* = 3.6 Hz, CH-3, 1H), 5.13 (dd, *J* = 10.2 Hz, *J* = 8.7 Hz, CH-2, 1H), 5.26 (dd, *J* = 3.3 Hz, *J* = 1.2 Hz, CH-4, 1H).

¹³ Paulsen, H.; Györgydeák, Z; Friedman, M.; *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1568-1578.

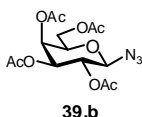
¹⁴ Sección: 1.7.3. Preparación de **(AcO)₃-β-Xyl-N₃ (36.b)**

1.7.5. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-N₃ (38.b)



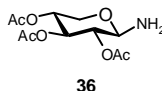
Se prepara por el método de Paulsen.¹³ Una disolución de (AcO)₅-β-Glc (10.0 g, 25.6 mmol), trimetilsililazida (TMSN₃) (3.85 ml, 29.0 mmol) y SnCl₄ fumante (2.58 ml, 22.0 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (200 ml) se agita durante 2 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, la disolución se lava con H₂O y se extrae con CH₂Cl₂. Se separan las fases y la fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO₃ y después con H₂O. Se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida para obtener el compuesto (AcO)₄-β-Glc-N₃ (38.b). Cantidad de compuesto obtenido: 9.7 g (sólido blanco). R = cuantitativo. P.f. = 124-126°C; [α]_D = -33.0° (c = 2.485, CHCl₃); ¹H-RMN (200, CDCl₃): δ 2.00 (s, CH₃CO, 3H), 2.02 (s, CH₃CO, 3H), 2.07 (s, CH₃CO, 3H), 2.09 (s, CH₃CO, 3H), 3.78 (ddd, J = 2.4 Hz, J = 4.6 Hz, J = 9.8 Hz, CH-5, 1H), 4.15 (dd, J = 2.4 Hz, J = 12.4 Hz, CH-6'), 4.27 (dd, J = 4.6 Hz, J = 12.4 Hz, CH-6), 4.64 (d, J = 8.8 Hz, CH-1, 1H), 4.95 (dd, J = 8.8 Hz, J = 9.2 Hz, CH-2, 1H), 5.09 (dd, J = 9.4 Hz, J = 9.5 Hz, CH-4, 1H), 5.22 (dd, J = 9.2 Hz, J = 9.4 Hz, H-3, 1H). E. M. (ES+) m/z: 331 [M - N₃]⁺, 391 [M + NH₄]⁺, 396 [M + Na]⁺. IR (KBr) (cm⁻¹): 2118, 1756, 1733, 1371, 1242, 1213, 1059, 1039.

1.7.6. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-N₃ (39.b)



Preparada por el mismo procedimiento que (AcO)₄-β-Glc-N₃ (38.b)¹⁵ a partir de (AcO)₅-β-Gal (39.a) (2.6 g, 6.66 mmol). Cantidad de compuesto obtenido (AcO)₄-β-Gal-N₃ (39.b): 2.1 g (sólido blanco). R = 85%. P.f. = 93-95 °C; [α]_D = -16.2° (c = 2.886, CHCl₃); ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1.99 (s, CH₃CO, 3H), 2.06 (s, CH₃CO, 3H), 2.09 (s, CH₃CO, 3H), 2.17 (s, CH₃CO, 3H), 4.01 (td, J = 1.0 Hz, J = 6.2 Hz, CH-5, 1H), 4.16 (m, CH₂-6, 2H), 4.60 (d, J = 8.6 Hz, CH-1, 1H), 5.02 (dd, J = 3.3 Hz, J = 10.3 Hz, CH-3, 1H), 5.16 (dd, J = 8.8 Hz, J = 10.3 Hz, CH-2, 1H), 5.42 (dd, J = 1.2 Hz, J = 3.3 Hz, CH-4, 1H). E. M. (ES+) m/z: 391 [M + NH₄]⁺, 396 [M + Na]⁺. IR (KBr) (cm⁻¹): 2120, 1760, 1777, 1365, 1250, 128, 1067, 1029.

1.7.7. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-NH₂ (36)



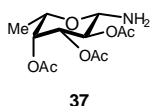
Una disolución de (AcO)₃-β-Xyl-N₃ (36.b) (1.0 g, 3.32 mmol) y Pd/C (5%) (1.0 g) en CH₂Cl₂ anhidro se hidrogena a presión atmosférica y se agita durante 2 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, el crudo se filtra sobre tierra diatomeas para eliminar el Pd/C y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (3:2) para obtener el compuesto (AcO)₃-β-Xyl-NH₂¹⁶ (36). Cantidad de compuesto obtenido: 550 mg (sólido blanco). R = 60%. P.f. = 101-102 °C; [α]_D = -22.4° (c = 1.0, CHCl₃); ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 2.00 (s, CH₃CO, 3H), 2.01 (s, CH₃CO, 3H), 2.05 (s, CH₃CO, 3H), 3.29 (t, J = 11.3 Hz, CH-5, 1H), 4.01 (dd, J = 5.7 Hz, J = 11.4 Hz, CH-5', 1H), 4.08 (d, J = 8.9 Hz, CH-1, 1H), 4.74 (t, J = 9.3 Hz, CH-2, 1H), 4.95

¹⁵ Sección: 1.7.5. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-N₃ (38.b)

¹⁶ Paulsen, H; Györgydeák, Z; Friedman, M; *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1590-1613.

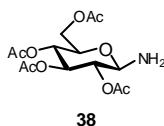
(dc, $J = 5.7$ Hz, $J = 9.6$ Hz, CH-4, 1H), 5.21 (t, $J = 9.5$ Hz, CH-3, 1H). ^{13}C -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 21.1 ($\text{CH}_3\text{CO} \times 2$), 21.2 (CH_3CO), 63.8 (CH-5), 69.5 (CH-4), 72.3 (CH-2), 72.7 (CH-3), 85.4 (CH-1), 169.9 (CO), 169.9 (CO), 170.3 (CO). **E. M. (ES+) m/z:** 276 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 298 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}$: C: 47.97%; H: 6.23%, N: 5.17%. Hallado: C: 48.51%; H: 6.31%, N: 5.09%.

1.7.8. Preparación de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-L-Fuc-NH}_2$ (37)



La amina $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-L-Fuc-NH}_2$ (37) se prepara por el mismo procedimiento que la amina $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ (36)¹⁷ a partir de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-L-Fuc-N}_3$ (37.b). R = 80%. ^1H -RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ 1.14 (d, CH_3 , $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.95 (s, CH_3CO , 3H), 2.04 (s, CH_3CO , 3H), 2.14 (s, CH_3CO , 3H), 3.76 (dc, $J = 6.5$ Hz, $J = 1.0$ Hz, H-5, 1H), 4.09 (d, $J = 8.0$ Hz, CH-1, 1H), 4.96 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, CH-2, 1H), 5.02 (dd, $J = 3.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, CH-3, 1H), 5.21 (dd, $J = 1.0$ Hz, $J = 3.0$ Hz, CH-4, 1H).

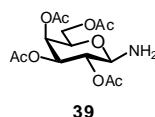
1.7.9. Preparación de $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Glc-NH}_2$ (38)



¹⁷ Sección: 1.7.7. Preparación de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ (36)

La amina $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Glc-NH}_2$ **(38)** se prepara por el mismo procedimiento que la amina $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ **(36)**¹⁹ a partir de $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Glc-N}_3$ **(38.b)**. R = 85 %. **P.f.** = 120-122 °C; $[\alpha]_D = +11.1^\circ$ (c = 0.543, CHCl_3); **¹H-RMN (200 MHz, CDCl_3):** δ 2.00 (s, CH_3CO , 3H), 2.01 (s, CH_3CO , 3H), 2.06 (s, CH_3CO , 3H), 2.08 (s, CH_3CO , 3H), 3.70 (ddd, $J = 2.4$ Hz, $J = 4.8$ Hz, $J = 9.90$ Hz, CH-5, 1H), 4.12 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 12.3$ Hz, CH-6', 1H), 4.16-4.26 (m, CH-6 y CH-1, 2H), 4.82 (dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 9.9$ Hz, CH-2, 1H), 5.03 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 9.9$ Hz, CH-4, 1H), 5.28 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 9.5$ Hz, CH-3, 1H). **E. M. (ES+) m/z:** 331 $[\text{M} - \text{NH}_2]^+$, 348 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 370 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 694 $[2\text{M} + \text{H}]^+$, 717 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 1755, 1732, 1378, 1244, 1226, 1038.

1.7.10. Preparación de $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-NH}_2$ **(39)**



La amina $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-NH}_2$ **(39)**²⁰ se prepara por el mismo procedimiento que la amina $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ **(36)**²¹ a partir de $(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-N}_3$ **(39.b)**. R = 80 %. **P.f.** = 134-136 °C; $[\alpha]_D = +26.7^\circ$ (c = 1.00, CHCl_3); **¹H-RMN (400 MHz, CDCl_3):** δ 1.90 (s, CH_3CO , 3H), 1.97 (s, CH_3CO , 3H), 2.00 (s, CH_3CO , 3H), 2.07 (s, CH_3CO , 3H), 3.82 (dt, $J = 1.0$ Hz, $J = 6.6$ Hz, CH-5, 1H), 4.01-4.03 (m, CH₂-6, 2H), 4.08 (d, $J = 8.1$ Hz, CH-1, 1H), 4.94 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 10.4$ Hz, CH-2, 1H), 4.97 (dd, $J = 3.0$ Hz, $J = 10.4$ Hz, CH-3, 1H), 5.32 (dd, $J = 1.0$ Hz, J

¹⁸ a) Babiano Caballero, R.; Fuentes Mota, J.; Galbis Pérez, J. A. *Carbohydr. Res.*, **1986**, *154*, 280-288. b) Shiozakia, M.; Mochizukia, T.; Hanzawab, H.; Haruyama, H.; *Carbohydr. Res.*, **1996**, *288*, 99-108.

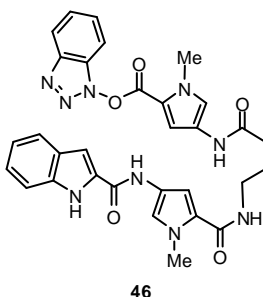
¹⁹ Sección: 1.7.7. Preparación de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ **(36)**

²⁰ Jarrahpour, A. A.; Shekariz, M.; Taslimi, A. *Molecules* **2004**, *9*, 29-38.

²¹ Sección: 1.7.7. Preparación de $(\text{AcO})_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ **(36)**

(CH), 121.6 (C), 121.8 (C), 123.2 (CH), 123.4 (C), 124.0 (CH), 125.1 (C), 125.2 (C), 127.2 (C), 131.7 (C), 136.6 (C), 158.3 (CO), 161.3 (CO), 162.3 (CO), 169.8 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 493 [M + H]⁺, 494 [M + 2H]⁺, 515 [M + Na]⁺, 516 [M + H + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3427, 3376, 3355, 3298, 2927, 1779, 1762, 1639, 1579, 1438, 1401, 1252, 1198, 1144, 1022, 848, 744, 561. **Análisis elemental** calculado para **C₂₅H₂₅FN₆O₄**: C: 60.97%; H: 5.12%; N: 17.06%, F: 3.38%. Hallado: C: 61.00%; H: 5.14%; N: 17.10%, F: 3.41%.

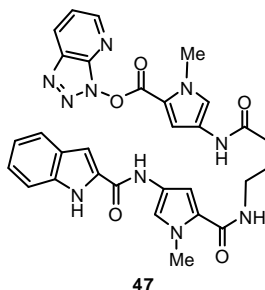
1.8.2. Preparación del **BtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (46)**



A una disolución de **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)** (120 mg, 0.244 mmol), HOBT (66 mg, 0.488 mmol) y TFFH (142 mg, 0.538 mmol) en DMF anhidra (2.4 ml) se le añade DIEA (0.17 ml, 0.976 mmol). La reacción se agita 24 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución saturada de CuSO₄ y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 133 mg R = 95%. **¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.82-1.86 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.34 (t, *J* = 7.4 Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.29-3.21 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.85 (s, CH₃, 3H), 3.87 (s, CH₃, 3H), 6.91 (d, *J* = 1.7 Hz, CH-3 Py, 1H), 7.05 (t, *J* = 7.5 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.19 (t, *J* = 7.6 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.27-7.31 (m, CH-5 Py,

CH-3 Py, CH-3 Ind, 3H), 7.46 (d, $J = 8.2$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.53 (t, $J = 7.6$ Hz, CH-5 BtO, 1H), 7.62-7.68 (m, CH-6 BtO, CH-4 Ind, 2H), 7.75 (d, $J = 1.7$ Hz, CH-5 Py-B, 1H), 7.83 (d, $J = 8.3$ Hz, CH-7 BtO, 1H), 8.10-8.18 (m, H-4 BtO, NH-3, 2H), 10.14 (s, NH-4, 1H), 10.30 (s, NH-2, 1H), 11.61 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (125 MHz, DMSO- d_6):** δ 25.5 ($\text{CH}_2\gamma_b$), 33.2 ($\text{CH}_2\gamma_c$), 36.0 (CH_3), 36.3 (CH_3), 38.1 ($\text{CH}_2\gamma_a$), 102.7 (CH-3 Ind), 104.0 (CH-3 Py), 109.3 (CH-7 BtO), 110.3 (CH-3 Py), 112.2 (CH-7 Ind, C-2 Py B), 118.0 (CH-5 Py A), 119.7 ($2 \times$ CH-5 Ind, CH-4 BtO), 121.5 (CH-4 Ind, C-4 Py A), 123.2 (C-2 Py A), 123.3 (CH-6 Ind), 124.2 (C-4 Py B), 125.1 (CH-5 Py-B y CH-5 BtO), 127.1 (C-3a Ind), 128.6 (C-7a BtO), 129.1 (CH-6 BtO), 131.6 (C-2 Ind), 136.5 (C-7a Ind), 142.7 (C-3a BtO), 156.0 (CO-4), 158.1 (CO), 161.1 (CO), 169.7 (CO). **E. M. (ES +) m/z :** 622 [$\text{M} - \text{HOBt}$] $^+$, 644 [$\text{M} + 2\text{H}$] $^+$, [$2\text{M} + \text{H}$] $^+$, [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 1265 [$2\text{M} + \text{Na}$] $^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3354, 3105, 2926, 2856, 2477, 2353, 1764, 1649, 1577, 1523, 1496, 1461, 1408, 1190, 1153, 1101, 1001, 982, 742. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_9\text{O}_5$: C: 61.28%; H: 4.81%; N: 20.75%. Hallado: 61.35%; H: 4.90%; N: 20.68%.

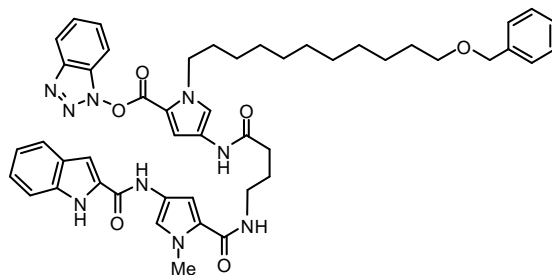
1.8.3. Preparación del **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)**



Se prepara por el mismo procedimiento que el compuesto **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)**²² a partir de **HO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (33)** (120 mg, 0.244 mmol), empleando HOAt en lugar de HOBt. El producto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 140 mg. R = 90%. **¹H-RMN (200 MHz, CD₃OD):** δ 2.01 (m, CH₂ γ_b , 2H), 2.45 (t, J = 7.0 Hz, CH₂ γ_c , 2H), 3.42 (m, CH₂ γ_a , 2H), 3.85 (s, CH₃, 3H), 3.88 (s, CH₃, 3H), 6.89 (d, J = 1.8 Hz, CH, 1H), 7.05 (t, J = 7.5 Hz, CH, 1H), 7.14 (s, CH, 1H), 7.21 (t, J = 8.2 Hz, CH, 1H), 7.25 (s, CH, 1H), 7.31 (d, J = 1.5 Hz, CH, 1H), 7.43 (d, J = 8.2 Hz, CH, 1H), 7.51-7.57 (m, 2 \times CH, 2H), 7.61 (s, CH, 1H), 7.96 (m, NH, 1H), 8.52 (d, J = 8.4 Hz, CH, 1H), 8.74 (d, J = 1.3 Hz, CH, 1H). **¹³C-RMN (75 MHz, CD₃OD):** δ 24.8 (CH₂), 32.9 (CH₂), 34.9 (CH₃), 35.1 (CH₃), 37.9 (CH₂), 102.4 (CH), 104.2 (CH), 110.5 (CH), 111.1 (CH), 112.4 (C), 118.6 (C), 119.3 (CH), 120.7 (C), 120.9 (C), 121.2 (C), 122.7 (C), 123.1 (CH), 124.8 (C), 127.2 (C), 128.8 (CH), 130.4 (C), 134.2 (C), 136.5 (C), 140.1 (C), 151.3 (CH), 155.5 (C), 159.3 (CO), 162.2 (CO), 171.1 (CO), 208.2 (CO). **E. M. (ES+) m/z:** 609.2 [M + H]⁺, 610.2 [M + 2H]⁺, 631.2 [M + Na]⁺, 1217.4 [2M + H]⁺, 1218.4 [2M + 2]⁺, 1239.4 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3400, 3282, 2962, 1778, 1638, 1580, 1436, 1401, 1261, 1098, 964, 803. **Análisis elemental** calculado para **C₃₀H₂₈N₁₀O₅**: C: 59.20%; H: 4.64%; N: 23.01%.

²² Sección: 1.8.2. Preparación del **BtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (46)**

1.8.4. Preparación del **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (48)**



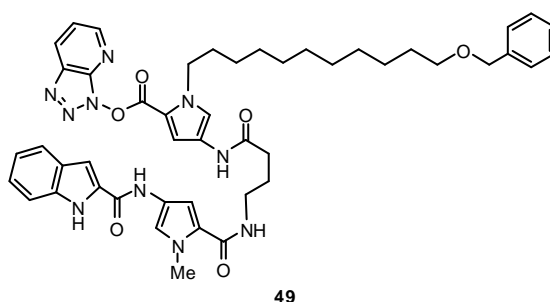
48

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **BtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (46)**²³ a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (34)** (1.5 g, 2.04 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 1.6 g. R = 90%. **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.14-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.52-1.60 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.68-1.80 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.93-2.00 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.47 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.40-3.46 (m, CH₂ γ, 2H), 3.44 (t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 4.28-4.34 (m, CH₂N, 2H), 4.47 (s, CH₂ Bn, 2H), 6.69 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.19 (dd, *J* = 0.7 Hz, *J* = 2.0 Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.23 (ddd, *J* = 1.2 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.31 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.31-7.36 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.37 (d, *J* = 1.2 Hz, CH Py, 1H), 7.48-7.53 (m, CH BtO, 1H), 7.55-7.58 (m, NH-3, 1H), 7.56 (dd, *J* = 0.9 Hz, *J* = 8.3 Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.62 (dd, *J* = 0.8 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH-4 Ind, 1H), 7.62-7.67 (m, CH BtO, 1H), 7.75 (td, *J* = 0.9 Hz, *J* = 8.4 Hz, CH BtO, 1H), 7.91 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 8.09 (td, *J* = 0.9 Hz, *J* = 8.4 Hz, CH BtO, 1H), 9.63 (s, NH-4, 1H), 9.74 (s, NH-2, 1H), 10.86 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (100**

²³ Sección: 1.8.2. Preparación del **BtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (46)**

MHz, acetone-d₆): δ 27.5 (CH₂ γ), 28.0 (CH₂), 28.1 (CH₂), 30.3 (CH₂), 30.8 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.4 (CH₂), 31.5 (CH₂CH₂O), 33.1, (CH₂CH₂N), 35.6 (CH₂ γ), 37.7 (CH₃), 40.4 (CH₂ γ), 50.9 (CH₂N), 71.9 (CH₂O), 74.1 (CH₂ Bn), 104.1 (C-3 Ind), 105.5 (CH Py), 110.8 (CH HOBT), 112.6 (CH Py), 114.1 (C-7 Ind), 120.0 (CH Py), 121.9 (CH BtO), 122.0 (C-6 Ind), 123.6 (CH BtO), 124.2 (C), 125.5 (C), 125.6 (C-4 Ind), 126.0 (C), 126.3 (CH Ind), 126.6 (CH Py), 126.7 (CH BtO), 129.1 (CH), 129.2 (CH \times 2 Bn), 129.8 (C), 130.0 (CH \times 2 Bn), 130.7 (CH), 131.1 (C), 133.6 (C), 141.2 (C), 145.3 (C), 158.15 (CO), 160.3 (CO), 163.7 (CO), 172.0 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 735.3 [M - H]⁺, 736.3 [M]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3417, 3286, 3132, 2929, 2855, 1774, 1641, 1581, 1407, 1308, 1252, 1147, 1096, 965, 851, 781, 744, 558.

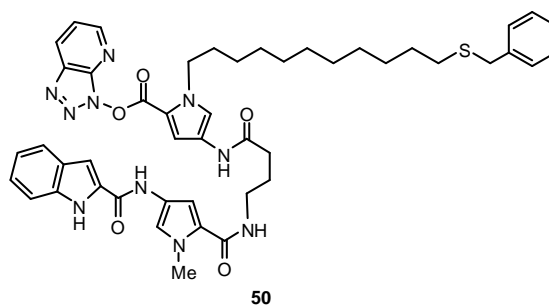
1.8.5. Preparación del **AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (49)**



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que para la obtención de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)**²⁴ a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (34)** (1.5 g, 2.04 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 1.6 g. R = 90%. **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.19-1.36 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.52-1.60 (m,

²⁴ Sección: 1.8.3. Preparación del **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)**

CH₂CH₂O, 2H), 1.72-1.76 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.97 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.48 (t, $J = 7.0$ Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.41-3.45 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.46 (t, $J = 6.5$ Hz, CH₂O, 2H), 3.94 (s, CH₃, 3H), 4.32 (t, $J = 7.3$ Hz, CH₂N, 2H), 4.47 (s, CH₂ Bn, 2H), 6.95 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.07 (ddd, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.17 (dd, $J = 0.7$ Hz, $J = 2.1$ Hz, CH, 1H), 7.22 (ddd, $J = 1.1$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.3$ Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.30 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.32-7.35 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.40 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.55 (dd, $J = 0.9$ Hz, $J = 8.3$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.55-7.59 (s, NH-3, 1H), 7.59-7.63 (2 × CH, 2H), 7.92 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 8.58 (dd, $J = 1.4$ Hz, $J = 8.4$ Hz, CH AtO, 1H), 8.79 (dd, $J = 1.4$ Hz, $J = 4.5$ Hz, CH AtO, 1H), 9.63 (s, NH-4, 1H), 9.69 (s, NH-2, 1H), 10.84 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 27.4 (CH₂γ), 27.9 (CH₂), 28.0 (CH₂), 29-31 (CH₂ × 7), 37.6 (CH₂γ), 39.7 (CH₃), 40.3 (CH₂γ), 50.9 (CH₂N), 71.8 (CH₂O), 74.1 (CH₂ Bn), 104.0 (C-3 Ind), 105.4 (CH), 112.6 (CH), 113.7 (CH), 114.0 (CH), 119.9 (CH Ind), 121.9 (CH BtO), 123.0 (CH Ind), 123.5 (CH BtO), 124.1 (C), 125.4 (C), 125.5 (C-4 Ind), 126.4 (CH Ind), 126.6 (C), 129.1 (CH BtO), 129.2 (CH), 129.8 (CH), 129.9 (C), 131.2 (CH), 133.6 (CH), 136.7 (C), 138.7, 141.0, 142.8, 154.0, 158.1 (CO), 160.2 (CO), 163.6 (CO), 172.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 755.5 [M + H]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3000-3800, 2927, 2847, 1777, 1639, 1588, 1537, 1439, 1404, 1245, 1122, 966, 746. **Análisis elemental** calculado para **C₄₇H₅₄N₉O₁₀**: C: 66.02%; H: 6.3 7%; N: 16.38%; O: 11.23%. Hallado: 66.08%; H: 6.40%; N: 16.35%.

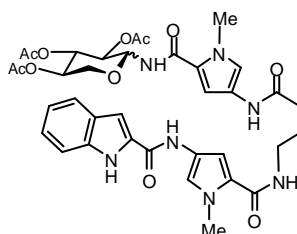
1.8.6. Preparación de **AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (50)**

Se prepara siguiendo el mismo procedimiento que para la preparación del compuesto **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)**²⁴ a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (35)** (210 mg, 0.280 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 135 mg. R = 66%. **¹H-RMN (300MHz, CD₃OD):** δ 0.81-1.42 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.42-1.58 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.60-1.81 (m, CH₂CH₂N, 2H), 2.01 (m, CH₂ γ , 2H), 2.34 (t, J = 7.2 Hz, CH₂S, 2H), 2.46 (t, J = 7.0 Hz, CH₂ γ , 2H), 3.40 (m, CH₂ γ , 2H), 3.66 (s, CH₂Bn, 2H), 3.88 (s, CH₃, 3H), 4.15-4.28 (m, CH₂N, 2H), 6.79 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.02-7.10 (m, CH Ind, 1H), 7.17-7.32 (m, CH \times 5 Bn + CH Ind \times 2 + CH Py \times 2, 9H), 7.45 (d, J = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.50-7.65 (m, CH Ind + CH AtO, 2H), 8.43-8.64 (m, CH AtO, 1H), 8.64-8.86 (m, CH HOAt, 1H). **¹³C-RMN (300 MHz, CD₃OD):** δ 26.9 (CH₂), 27.2 (CH₂), 27.6 (CH₂), 29.8 (CH₂), 30.2 (CH₂), 30.3 (CH₂), 30.5 (CH₂ \times 2), 30.6 (CH₂), 30.7 (CH₂), 30.7 (CH₂), 32.7 (CH₂S), 34.8 (CH₂ γ), 36.8 (CH₃), 36.9 (CH₂Bn), 38.1 (CH₂ γ), 50.4 (CH₂N), 104.4 (CH Ind), 106.1 (CH Py), 112.7 (CH Py), 113.1 (CH Ind), 120.5, 121.2, 122.5, 122.8, 125.1, 125.2, 126.1, 127.8, 129.1, 129.4, 129.9, 130.7, 136.3, 138.4 (C), 142.1 (C), 153.2 (CO), 157.3 (CO), 164.3 (CO), 173.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 872.06 [M + H]⁺, 872.06 [M + 2H]⁺.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3437, 2981, 2920, 2128, 1755, 1588, 1464, 1443, 1378, 1194, 1092, 1065, 868, 825, 762.

1.9. Preparación de los derivados acetilados de las glico-oligoamidas I

1.9.1. Preparación de (AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)

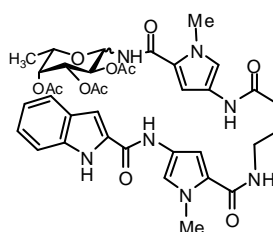


52.b/52. c

A una disolución de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)** (100 mg, 0.16 mmol) y **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)** (90 mg, 0.329 mmol) en DMF anhidra bajo atmósfera de argón se añade DIEA (103.4 μ l, 0.64 mmol). La reacción se agita 72 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se añade una disolución saturada de CuSO₄, se extrae con AcOEt y se separan las dos fases. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Se obtiene el compuesto deseado **(AcO)₃-Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)**, como una mezcla de anómeros α/β (1/1). 92 mg. R = 95%. Una cantidad analítica de β se consiguió separar para su caracterización. **Caracterización de (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c):** $[\alpha]_D = -12.88^\circ$ (c = 0.1, CHCl₃) **¹H-RMN (200 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.78-1.80 (m, CH₂ γ_b , 2H), 1.91 (s, CH₃, 3H), 1.97 (s, CH₃, 3H), 2.00 (s, CH₃, 3H), 2.25-2.29 (m, CH₂ γ , 2H), 3.19-3.23 (m, CH₂ γ , 2H), 3.54-3.58 (m, CH, 1H), 3.77 (s, CH₃, 3H), 3.83 (s, CH₃, 3H), 3.87-3.91 (m, CH, 1H), 4.79-4.83 (m, CH, 1H), 5.06 (dd, J = 9.2 Hz, J = 9.4 Hz, CH-1, 1H), 5.28-5.32 (m, CH \times 2, 2H), 6.72 (d, J = 1.4 Hz,

CH, 1H), 6.89 (d, $J = 1.8$ Hz, CH, 1H), 7.04 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.2$ Hz, CH, 1H), 7.18-7.22 (m, CH \times 2, 2H), 7.27 (s, CH \times 2, 2H), 7.45 (d, $J = 8.0$ Hz, CH, 1H), 7.64 (d, $J = 7.8$ Hz, CH, 1H), 8.10 (m, NH-3, 1H), 8.58 (d, $J = 9.2$ Hz, NH-5, 1H), 9.85 (s, NH-4, 1H), 10.28 (s, NH-2, 1H), 11.60 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (200 MHz, DMSO- d_6):** δ 20.2 ($3 \times \text{CH}_3$), 25.5 (CH_2), 33.2 (CH_2), 35.8 ($2 \times \text{CH}_3$), 38.1 (CH_2), 63.2 (CH_2 -5), 68.6 (CH), 70.6 (CH), 72.7 (CH), 77.6 (CH), 102.7 (CH), 104.1 (CH), 104.8 (CH), 112.1 (CH), 118.0 (CH), 118.9 (CH), 119.6 (CH), 121.5 (CH), 121.9 ($3 \times \text{C}$), 122.0 (C), 123.2 (CH), 127.0 (C), 131.6 (C), 136.5 (C), 158.1(HNCO), 160.9 (HNCO), 161.1 (HNCO), 168.9 (COCH_3), 169.2 (COCH_3), 169.4 (COCH_3). **E. M. (ES +) m/z:** 748 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 770 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1495 $[2\text{M} + \text{H}]^+$, 1517 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3412.33, 2931.59, 1754.67, 1648.04, 1527.06, 1439.37, 1403.45, 1370.71, 1229.92, 1146.57, 1058.39, 748.29, 604.35. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{N}_7\text{O}_{11}$: C: 48.41%; H: 6.09%; N: 4.03%. Hallado: C: 48.45%; H: 6.14%; N: 4.10%. El anómero (**AcO**) $_3$ - α -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind no pudo ser aislado.

1.9.2. Preparación de (**AcO**) $_3$ - α/β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i)

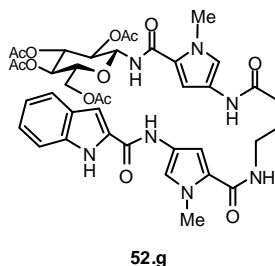


52.h/52.i

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)**²⁵ a partir de **AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47)** (206 mg, 0.340 mmol) y de **(AcO)₄- β -L-Fuc-NH₂ (37)** (200 mg, 0.68 mmol). Cantidad de producto como una mezcla de isómeros α/β con una relación 1/3: 195 mg. R = 75%. Una cantidad analítica de β se consiguió separar para su caracterización.

Caracterización de (AcO)₃- β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.i): ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): δ 1.17 (d, J = 6.4 Hz, CH₃, 3H), 1.93-1.97 (m, CH₂, 2H), 1.99 (s, CH₃, 3H), 2.00 (s, CH₃, 3H), 2.05 (s, CH₃, 3H), 2.30 (m, CH₂, 2H), 3.32-3.36 (m, CH₂, 2H), 3.79 (s, CH₃, 3H), 3.82 (s, CH₃, 3H), 3.92-3.96 (m, CH, 1H), 5.05-5.35 (m, 4 \times CH, 4H), 6.43-6.47 (m, NH, 1H), 6.48 (d, J = 1.8 Hz, CH, 1H), 6.69 (d, J = 1.6 Hz, CH, 1H), 7.08-7.35 (m, NH + CH \times 6, 7H), 7.42 (d, J = 8.2 Hz, CH, 1H), 7.63 (d, J = 7.6 Hz, CH, 1H), 8.52 (s, NH, 1H), 8.65 (s, NH, 1H), 9.87 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 16.1 (CH₃), 20.3 (CH₃), 20.6 (CH₃), 20.8 (CH₃), 25.7 (CH₂), 33.7 (CH₂), 36.3 (CH₃), 36.6 (CH₃), 38.5 (CH₂), 68.5 (CH), 70.4 (CH), 70.7 (CH), 71.5 (CH), 78.4 (CH), 103.7 (CH), 104.6 (CH), 104.7 (CH), 112.0 (CH), 119.8 (CH), 120.5 (CH), 120.6 (CH), 121.1 (C), 121.6 (C), 121.7 (C), 121.9 (CH), 123.1 (C), 124.5 (CH), 127.5 (C), 130.7 (C), 136.7 (C), 159.5 (CO), 161.5 (CO), 162.3 (CO), 170.0 (CO), 170.4 (CO), 170.7 (CO), 171.6 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 762 [M + H]⁺, 1523 [2M + H]⁺, 1545 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3376, 2928, 1750, 1710, 1531, 1443, 1371, 1227, 1078, 912, 824, 749, 602. **Análisis elemental** calculado para **C₃₇H₄₃N₇O₁₁**: C %: 58.34; H%: 5.69; N%: 12.87.

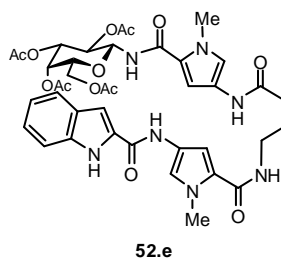
²⁵ Sección: 1.9.1. Preparación de **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)**

1.9.3. Preparación de (AcO)₄- β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.g)

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)²⁵ a partir de AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47) (330 mg, 0.540 mmol) y (AcO)₄- β -Glc-NH₂ (38) (360 mg, 1.080 mmol). Se obtiene una mezcla (AcO)₄- α/β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.f/52.g) (α/β = 1/5), aunque sólo se consigue aislar el anómero β . Cantidad de producto (AcO)₄- β -Glc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.g) obtenido: 301 mg (sólido blanco). R = 68%. P.f. = 160-161 °C; $[\alpha]_D^{25}$ = +10.6° (c = 1.56, DMSO-d₆); ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1.78-1.82 (m, CH₂ γ , 2H), 1.90 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.94 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.99 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.00 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, CH₂ γ , 2H), 3.21-3.25 (m, CH₂ γ , 2H), 3.79 (s, CH₃, 3H), 3.84 (s, CH₃, 3H), 4.00 (dd, J = 1.9 Hz, J = 12.3 Hz, CH, 1H), 4.10 (ddd, J = 2.1 Hz, J = 4.3 Hz, J = 10.0 Hz, CH, 1H), 4.19 (dd, J = 4.5 Hz, J = 12.4 Hz, CH, 1H), 4.91 (dd, J = 9.7 Hz, J = 9.9 Hz, CH, 1H), 5.09 (dd, J = 9.3 Hz, J = 9.5 Hz, CH, 1H), 5.36 (dd, J = 9.5 Hz, J = 9.7 Hz, CH, 1H), 5.50 (dd, J = 9.3 Hz, J = 9.5 Hz, CH, 1H), 6.77 (d, J = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.05-7.07 (m, CH, 1H), 7.17-7.23 (m, 2 \times CH, 2H), 7.27-7.29 (m, 2 \times CH, 2H), 7.46 (dd, J = 0.9 Hz, J = 8.2 Hz, CH, 1H), 7.65 (d, J = 7.9 Hz, CH, 1H), 8.09 (dd, J = 5.5 Hz, J = 5.9 Hz, CH, 1H),

8.66 (d, $J = 9.5$ Hz, NH, 1H), 9.84 (s, NH, 1H), 10.27 (s, NH, 1H), 11.59 (d, $J = 1.8$ Hz, NH, 1H). ^{13}C -RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 20.3 (CH_3 (AcO)), 20.3 (CH_3 (AcO)), 20.4 (CH_3 (AcO)), 20.5 (CH_3 (AcO)), 25.6 ($\text{CH}_2\gamma$), 33.2 ($\text{CH}_2\gamma$), 36.0 (CH_3), 36.1 (CH_3), 38.2 ($\text{CH}_2\gamma$), 61.7 (CH_2 -6), 67.9 (CH), 70.6 (CH), 72.0 (CH), 73.1 (CH), 77.7 (C-1), 102.8 (CH), 104.1 (CH), 104.9 (CH), 112.3 (CH), 118.1 (CH), 119.2 (CH), 119.8 (CH), 121.4 (CH), 121.5 (C), 121.6 (C), 122.2 (C), 123.3 (C), 123.4 (CH), 127.1 (C), 127.1 (C), 136.6 (C), 158.2 (CO), 160.9 (CO), 161.2 (CO), 169.0 (CO), 169.3 (CO), 169.3 (CO), 169.5 (CO), 170.0 (CO). **E. M.** (ES +) m/z : 820 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 842 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR** (KBr) (cm^{-1}): 1749, 1645, 1234. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{45}\text{N}_7\text{O}_{13} + 1.2\text{H}_2\text{O}$: C: 55.67%; H: 5.68%; N: 11.65%. Hallado: C %: 55.42%; H%: 5.49%; N%: 11.44%.

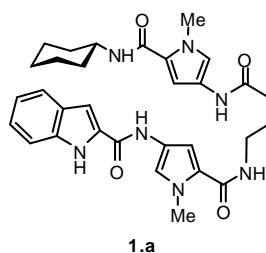
1.9.4. Preparación de (AcO) $_4$ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.e)



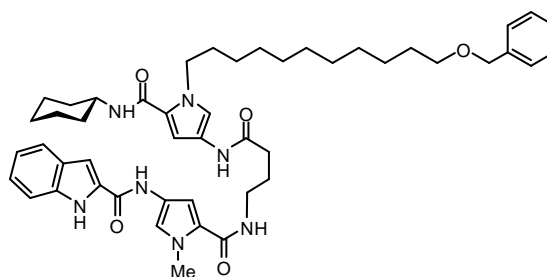
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (AcO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)²⁵ a partir de AtO-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (47) (320 mg, 0.525 mmol) y (AcO) $_4$ - β -Gal-NH $_2$ (39) (364 mg, 1.050 mmol). Se obtiene una mezcla (AcO) $_4$ - α/β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.d/52.e) ($\alpha/\beta = 1/5$), aunque sólo se consigue aislar el anómero β . Cantidad de producto β obtenido: 280 mg (sólido blanco). R = 66%. P.f. = 165-167 °C; $[\alpha]_D = +0.925^\circ$ ($c = 3.09$, acetona). ^1H -RMN (500 MHz, DMSO- d_6): δ 1.80 (t, $J = 7.5$ Hz, $\text{CH}_2\gamma_b$, 2H), 1.91 (s, CH_3

(AcO), 3H), 1.92 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.99 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.12 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.29 (t, $J = 7.5$ Hz, CH₂γ, 2H), 3.22-3.34 (m, CH₂γ, 2H), 3.78 (s, CH₃, 3H), 3.84 (s, CH₃, 3H), 4.02 (m, 2H), 4.32 (t, $J = 6.0$ Hz, CH, 1H), 5.22 (t, $J = 9.3$ Hz, CH, 1H), 5.30 (m, 2H), 5.45 (t, $J = 9.3$ Hz, CH, 1H), 6.78 (s, CH Py, 1H), 6.90 (s, CH Py, 1H), 7.05 (t, $J = 7.5$ Hz, CH Ind, 1H), 7.20 (t, $J = 7.8$ Hz, CH Ind, 1H), 7.24 (s, CH, 1H), 7.28 (s, 2 × CH, 2H), 7.46 (d, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 7.65 (d, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 8.07 (m, NH, 1H), 8.74 (d, $J = 9.5$ Hz, NH, 1H), 9.82 (s, NH, 1H), 10.30 (s, NH, 1H), 11.58 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆):** δ 20.3 (CH₃ (AcO)), 20.4 (CH₃ (AcO)), 20.4 (CH₃ (AcO)), 20.4 (CH₃ (AcO)), 25.6 (CH₂γ), 33.2 (CH₂γ), 36.0 (CH₃), 36.1 (CH₃), 38.2 (CH₂γ), 61.4 (CH₂), 67.6 (CH), 68.3 (CH), 71.1 (CH), 71.3 (CH), 77.5 (C-1), 102.8 (CH), 104.1 (CH), 104.9 (CH), 112.2 (CH), 118.0 (CH), 119.2 (CH), 119.7 (CH), 121.5 (CH), 121.5 (C), 121.6 (C), 122.1 (C), 123.3 (C), 123.3 (CH), 127.1 (C), 131.6 (C), 136.5 (C), 158.2 (CO), 160.9 (CO), 161.2 (CO), 169.0 (CO), 169.3 (CO), 169.4 (CO), 169.8 (CO), 169.9 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 821 [M + H]⁺, 843 [M + Na]⁺, 1641 [2M + H]⁺, 1663 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 1748, 1646, 1531, 1248, 1232. **Análisis elemental** calculado para C₃₉H₄₅N₇O₁₃: C: 57.14%; H: 5.53%; N: 11.96%. Hallado: C%: 56.78; H%: 5.60; N%: 11.69.

1.9.5. Preparación de cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)



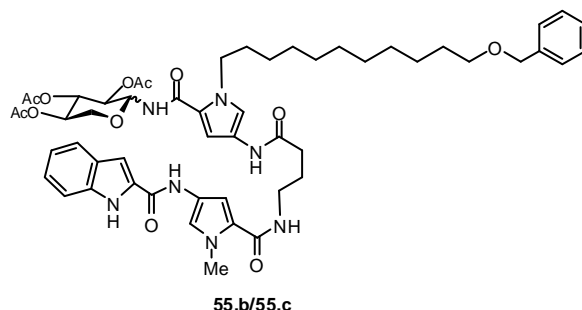
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.c)**²⁵ a partir de **AtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (47)** (305 mg, 0.50 mmol) y **cHx-NH₂ (51)** (100 mg, 1.01 mmol) Cantidad de producto: 550 mg (sólido blanco). R = 95%. **P.f.** = 224-226 °C; **¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.25-1.27 (m, CH₂ × 2, 4H), 1.59 (d, *J* = 11.8 Hz, CH₂, 2H), 1.73-1.91 (m, CH₂ × 3, 6H), 2.28 (t, *J* = 7.5 Hz, CH₂γ, 2H), 3.20-3.22 (m, CH₂γ, 2H), 3.65 (sa, CH-1 cHx, 1H), 3.76 (s, CH₃, 3H), 3.84 (s, CH₃, 3H), 6.69 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.89 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.02-7.07 (m, 2 × CH, 2H), 7.19 (dd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.28 (s, 2H), 7.46 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.08 (t, *J* = 5.5 Hz 1H), 9.71 (s, NH, 1H), 10.26 (s, NH, 1H), 11.58 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (50 MHz, DMSO-d₆):** δ 24.9 (CH₂), 25.2 (CH₂), 25.6 (CH₂), 32.4 (CH₂), 33.2 (CH₂), 35.7 (CH₃), 35.8 (CH₃), 38.3 (CH₂γ), 47.4 (CH-1 cHx), 102.8 (CH), 103.6 (CH), 104.1 (CH), 112.2 (CH), 117.3 (CH), 118.0 (CH), 119.6 (CH), 121.4 (CH), 121.6 (C), 121.7 (C), 123.2 (C + CH), 127.1 (C), 131.6 (C), 136.5(C), 158.1 (CO), 160.2 (CO), 161.1 (CO), 169.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 571 [M + H]⁺; 594 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3400, 1632, 1577, 1532, 1461, 1439, 1403, 1306, 1241, 1147. **Análisis elemental** calculado para **C₃₁H₃₇N₇O₄**: C%: 65.13; H%: 6.52; N%: 17.15; Hallado: C%: 64.95; H%: 6.52%; N%: 16.90.

1.9.6. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.a)****3.a**

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.c)**²⁵ a partir de **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (48)** (1.2 g, 1.4 mmol) y **cHx-NH₂ (51)** (277 mg, 2.8 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto obtenido: 800 mg. R = 70%. Pf = 122-125 °C; ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.00-1.40 (m, CH₂ × 7 + CH₂ × 2 cHx, 18H), 1.40-1.60 (m, CH₂CH₂O, + CH₂ cHx, 4H), 1.6-1.75 (m, CH₂CH₂N + CH₂ cHx, 4H), 1.75-1.95 (m, CH₂γ_b + CH₂ cHx, 4H), 2.35 (t, *J* = 7.1 Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.30-3.40 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.42 (t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.70-3.90 (m, CH-1 cHx, 1H), 3.98 (s, CH₃, 3H), 4.28 (t, *J* = 7.2 Hz, CH₂N, 2H), 4.47 (s, CH₂ Bn, 2H), 6.65 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.91 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.05 (ddd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 1.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.1 Hz, NH-5), 7.20-7.22 (m, CH Ind, 1H), 7.22-7.24 (m, CH Py + CH Ind, 2H), 7.29-7.32 (m, CH × 5 Bn + CH Py, 6H), 7.50 (m, CH Ind + NH-3, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 9.27 (s, NH-4, 1H), 9.77 (s, NH-2, 1H), 10.93 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 26.5 (CH₂), 27.0 (CH₂ × 2), 27.3 (CH₂), 27.6 (CH₂), 27.9 (CH₂ × 2), 28.3 (CH₂), 31.0 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.5 (CH₂), 33.7 (CH₂), 34.7 (CH₂γ), 37.7 (CH₃), 40.4, (CH₂γ), 49.9 (CH-1 cHx), 50.0 (CH₂N), 71.9 (CH₂O), 74.9 (CH₂ Bn),

104.2 (CH Ind), 105.1 (CH Py), 105.5 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 118.5 (CH Py), 120.2 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.5 (C), 124.1 (C), 124.2 (CH Ind), 125.1 (C), 125.4 (C), 125.6 (CH Ind), 129.0 (CH Bn), 129.2 (CH \times 2 Bn), 129.8 (C), 130.0 (CH \times 2 Bn), 133.6 (C), 138.8 (C), 141.1 (C Bn), 160.4 (C), 162.7 (CO), 171.4 (CO), 171.4 (CO), 171.5 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 818.3 [M + H]⁺, 819.3 [M + 3]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3428, 3302, 2928, 2853, 1635, 1578, 1524, 1451, 1401, 1307, 1251, 1145, 1101, 773, 745, 698. **Análisis elemental** calculado para **C₄₈H₆₃N₇O₅**: C: 70.47%; H: 7.76%; N: 11.99%; O: 9.78% Hallado: C: 70.18%; H: 7.48%; N: 11.98%.

1.9.7. Preparación de **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.b/55.c)**



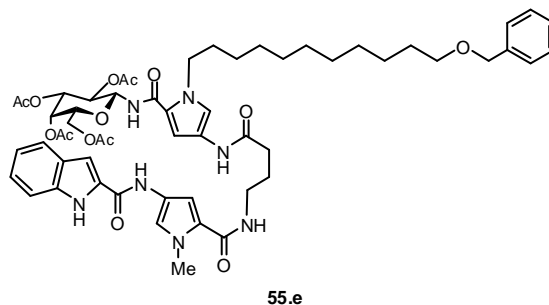
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)**²⁵ a partir de **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (48)** (1.2 g, 1.4 mmol) y **(AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36)** (790 mg, 2.8 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en AcOEt (100%). Cantidad de producto obtenido, con una relación (α/β)= 1/1: 840 mg. R = 60%. Los anómeros pueden ser separados por cromatografía en columna. **Caracterización (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind. (55.c):** P.f. = 95-97 °C; [α]_D = -35.33° (c = 0.15, acetona); ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.18-1.42 (m, CH₂ \times 7, 14H),

1.54-1.64 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 2H), 1.64-1.75 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 2H), 1.91 (t, $J = 6.8$ Hz, $\text{CH}_2\gamma$, 2H), 1.95 (s, CH_3 (AcO), 3H), 1.99 (s, CH_3 (AcO), 3H), 2.00 (s, CH_3 (AcO), 3H), 2.39 (t, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_2\gamma$, 2H), 3.35-3.43 (m, $\text{CH}_2\gamma$, 2H), 3.46 (t, $J = 6.5$ Hz, CH_2O , 2H), 3.57 (t, $J = 11.0$ Hz, CH-5ec Xyl, 1H), 3.92 (s, CH_3), 4.00 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 5.9$ Hz, CH-5ax Xyl, 1H), 4.23-4.38 (m, CH_2N , 2H), 4.48 (s, CH_2 Bn, 2H), 4.90-4.96 (m, CH-4 Xyl, 1H), 5.05 (t, $J = 9.4$ Hz, CH-2 Xyl, 1H), 5.35 (t, $J = 9.6$ Hz, CH-3 Xyl, 1H), 5.40 (t, $J = 9.5$ Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.65 (d, $J = 1.8$ Hz, CH-3 Py B, 1H), 6.92 (d, $J = 1.8$ Hz, CH-3 Py A, 1H), 7.08 (t, $J = 7.1$ Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.20 (d, $J = 1.5$ Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 8.2$ Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.31 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.32-7.35 (m, $\text{CH} \times 5$ Bn, 5H), 7.44 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.52 (t, $J = 5.6$ Hz, NH-3, 1H), 7.56 (d, $J = 8.3$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 7.63 (d, $J = 8.7$ Hz, NH-5, 1H), 7.77 (d, $J = 10.2$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 9.32 (s, NH-4, 1H), 9.68 (s, NH-2, 1H), 10.88 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (100 MHz, acetona- d_6):** δ 21.7 (CH_3 (AcO)), 21.8 (CH_3 (AcO)), 21.9 (CH_3 (AcO)), 27.6 ($\text{CH}_2\gamma$), 28.0 (CH_2), 28.4 (CH_2), 30.0 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O} + \text{CH}_2 \times 4$), 33.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 35.6 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.7 (CH_3), 40.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 50.4 (CH_2N), 65.8 (CH_2 -5 Xyl), 71.0 (CH-4 Xyl), 72.9 (CH_2O), 74.2 (CH-2 Xyl), 74.6 (CH_2 Bn), 74.8 (CH-3 Xyl), 80.5 (CH-1 Xyl), 104.1 (CH-3 Ind), 105.1 (CH Py), 106.2 (CH Py), 114.2 (CH-4 Ind), 120.1 (CH Py), 120.5 (CH Py), 122.0 (CH-6 Ind), 123.3 (CH-7 Ind), 123.6 (CH-5 Ind), 124.2 (C), 125.6 (C), 125.7 (C), 129.1 (CH Bn), 129.3 (CH \times 2 Bn), 129.9 (C), 130.1 (CH \times 2 Bn), 133.7 (C), 138.9 (C), 141.2 (C Bn), 160.4 (CO), 162.9 (CO), 163.7 (CO), 171.2 (CO), 171.4 (CO AcO), 171.5 (CO AcO), 171.7 (CO AcO). **E. M. (ES +) m/z:** 994.5 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 995.5 $[\text{M} + 2]^+$, 1016.5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1017.5 $[\text{M} + \text{Na} + 1]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3379.97, 2928.67, 2855.21, 1755.83, 1654.19, 1579.24, 1526.52, 1441.53, 1403.46, 1369.21, 1307.58, 1227.97, 1145.87, 1064.10, 1036.36, 937.24, 903.93, 812.43, 747.13, 698.99, 605.90. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{53}\text{H}_{67}\text{N}_7\text{O}_{12}$: C:

64.03%; H: 6.79%; N: 9.86%; O: 19.31% Hallado: C: 63.79%; H: 6.58%; N: 9.81%. **Caracterización** (AcO)₃- α -Xyl-Py-(B)[(CH₂)₁₁OBn]- γ -Py(A)-Ind (55.b): P.f. = 90-95 °C, [α]_D = 12.74° (c = 1, acetona); ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.18-1.41 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.53-1.64 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.64-1.76 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.89-1.94 (m, CH₂ γ , 2H), 2.02 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.04 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.06 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.39 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂ γ , 2H), 3.36-3.41 (m, CH₂ γ , 2H), 3.46 (t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.87 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 12.6 Hz, CH₂-5 Xyl, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 4.27-4.32 (m, CH₂N, 2H), 4.48 (s, CH₂ Bn, 2H), 4.83 (dt, *J* = 4.4 Hz, *J* = 6.8 Hz, CH-4 Xyl, 1H), 4.95 (dd, *J* = 4.2 Hz, *J* = 7.4 Hz, CH-2 Xyl, 1H), 5.46 (t, *J* = 7.1 Hz, CH-3 Xyl, 1H), 5.92 (dt, *J* = 3.8 Hz, *J* = 7.5 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.85 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.93 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.20 (d, *J* = 0.6 Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, *J* = 1.1 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.32 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.32-7.35 (m, CH \times 5 Bn), 7.38 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py), 7.56 (dd, *J* = 8.3 Hz, *J* = 0.7 Hz CH-4 Ind, 1H), 7.50-7.60 (sa, NH-3, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, CH-7 Ind, 1H), 8.03 (d, *J* = 9.4 Hz, NH-5, 1H), 9.33 (s, NH-4, 1H), 9.73 (s, NH-2, 1H), 10.87 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆): δ 21.7 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 27.6 (CH₂ γ), 27.9 (CH₂), 28.3 (CH₂), 30.9 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.5 (CH₂), 33.6 (CH₂CH₂N), 35.4 (CH₂ γ), 37.6 (CH₃), 39.7, (CH₂ γ), 50.2 (CH₂N), 63.5 (CH₂-5 Xyl), 69.8 (CH-4 Xyl), 70.2 (CH-2 Xyl), 70.9 (CH-3 Xyl), 71.9 (CH₂O), 74.1 (CH₂ Bn), 80.5 (CH-1 Xyl), 104.1 (CH Ind), 105.3 (CH Py), 106.9 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 120.1 (CH Ind), 121.9 (CH Ind), 123.3 (C), 123.3 (C), 123.5 (CH Ind), 124.0 (C), 124.4 (C), 125.6 (CH Py), 129.0 (CH Bn), 129.2 (CH \times 2 Bn), 129.7 (C), 130.0 (CH \times 2 Bn), 138.7 (C), 138.8 (C), 141.1 (C Bn), 163.1 (CO), 163.6 (CO), 163.6 (CO), 170.9 (CO), 171.2 (CO (AcO)), 171.3 (CO (AcO)), 171.4 (CO (AcO)). **E.**

M. (ES +) m/z: 994.5 $[M + H]^+$, 995.5 $[M + 2H]^+$, 1016.5 $[M + Na]^+$, 1017.5 $[M + Na + H]^+$. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3377, 2928, 2854, 1753, 1646, 1579, 1523, 1440, 1403, 1369, 1307, 1223, 1145, 1044, 874, 804, 746, 698, 638, 604. **Análisis elemental** calculado para **C₅₃H₆₇N₇O₁₂**: C: 64.03%; H: 6.79%; N: 9.86%; O: 19.31% Hallado: C: 64.07%; H: 6.82%; N: 9.89%.

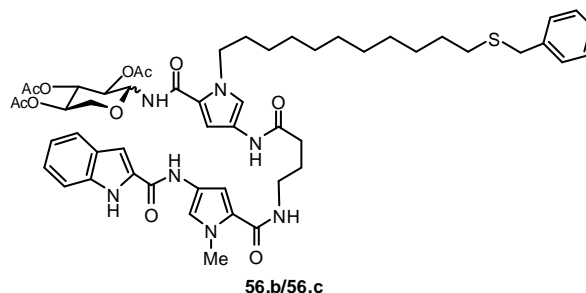
1.9.8. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.e)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.c)²⁵ a partir de BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (48) (1.3 g, 1.52 mmol) y (AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39) (1.0 g, 3.05 mmol). Se obtiene mezcla (AcO)₄-α/β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.d/55.e) (α/β = 1/5), aunque sólo se consigue aislar el anómero β. El compuesto se purifica por cromatografía en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.e) obtenido: 920 mg. R = 46%. P.f. = 95-96 °C; [α]_D = 4.04° (c = 0.19, acetona); ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.18-1.42 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.50-1.62 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.62-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.90-1.95 (m, CH₂γ, 2H), 1.94 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.95 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.96 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.97 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.40 (t, J = 7.2 Hz, CH₂γ, 2H), 3.34-3.42 (m, CH₂γ, 2H), 3.46 (t, J = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.92 (s,

CH₃, 3H), 4.04-4.16 (m, CH₂-6 Gal, 2H), 4.26-4.36 (m, CH₂N, 2H), 4.48 (s, CH₂ Bn, 2H), 5.17-5.33 (m, CH Gal × 3, 3H), 5.45 (dd, $J = 1.1$ Hz, $J = 3.5$ Hz, CH Gal, 1H), 5.50 (t, $J = 9.1$ Hz, CH-1 Gal, 1H), 6.74 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 6.93 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, $J = 0.7$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 7.8$ Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.21 (d, $J = 1.6$ Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.23 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 1.0$ Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.32 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.29-7.37 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.47 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.53-7.61 (sa, NH-3, 1H), 7.56 (d, $J = 8.3$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 7.63 (d, $J = 10.3$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.76 (d, $J = 10.4$ Hz, NH-5, 1H), 9.40 (s, NH-4, 1H), 9.76 (s, NH-2, 1H), 10.87 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆):** δ 21.5 (CH₃ (AcO)), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 27.5 (CH₂γ_b), 28.0 (CH₂), 28.3 (CH₂), 30.9 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.3 (CH₂), 33.5 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃), 40.3, (CH₂γ), 50.4 (CH₂N), 63.1 (CH₂-6 Gal), 69.5 (CH Gal), 70.3 (CH Gal), 71.9 (CH Gal), 73.2 (CH Gal), 73.9 (CH₂O), 74.1 (CH₂ Bn), 80.0 (CH-1 Gal), 104.1 (CH Ind), 105.3 (CH Py), 106.2 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 120.5 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.5 (C), 123.3 (C), 123.5 (CH Ind), 123.5 (C), 124.6 (C), 125.6 (CH Ind), 129.0 (CH Bn), 129.2 (CH × 2 Bn), 129.8 (C), 130.0 (CH × 2 Bn), 137.8 (C), 138.6 (C), 141.1 (C Bn), 171.1 (CO), 171.1 (CO), 171.4 (CO), 171.5 (CO), 171.7 (CO), 171.7 (CO), 171.7 (CO), 171.9 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 1066.3 [M + H]⁺, 1067.4 [M + 2]⁺, 1068.3 [M + 3]⁺, 1088.5 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3392, 2931, 2856, 1750, 1655, 1578, 1528, 1439, 1404, 1371, 1307, 1230, 1147, 1081, 1051, 910, 747, 601. **Análisis elemental** calculado para C₅₆H₇₁N₇O₁₄: C: 63.08%; H: 6.71%; N: 9.20%; O: 21.01%. Hallado: C: 63.10%; H: 6.75%; N: 9.22%.

1.9.9. Preparación de **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (56.b/56.c)**



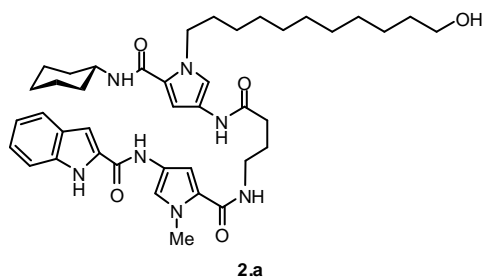
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que para la preparación del compuesto **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)**²⁵ a partir de **AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (50)** (42 mg, 0.048 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en CH₂Cl₂/MeOH (40:1). Cantidad de producto **(AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (56.b/56.c)** obtenido con una relación (α/β = 1/1): 26 mg, R = 54%. Caracterización de la mezcla α/β en una proporción 1/4: **¹H-RMN (300MHz, CD₃OD):** δ 1.14-1.44 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.45-1.60 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.60-1.70 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.95 (s, CH₃(AcO) β , 3H), 2.01 (s, CH₃(AcO) β , 3H), 2.02 (s, CH₃(AcO) β , 3H), 2.07 (s, CH₃(AcO) α , 3H), 2.08 (s, CH₃(AcO) α , 3H), 2.09 (s, CH₃(AcO) α , 3H), 1.97 (m, CH₂ γ , 2H), 2.33-2.44 (m, CH₂ γ + CH₂S, 4H), 3.34-3.42 (m, CH₂ γ , 2H), 3.68 (s, SCH₂Bn, 2H), 3.69-3.85 (m, CH-5 Xyl, 1H), 3.86 (s, CH₃, 3H), 3.90-3.96 (m, CH Xyl, 1H), 4.03 (dd, J = 5.4 Hz, J = 11.3 Hz, CH Xyl, 1H), 4.17-4.30 (m, CH₂N, 2H), 4.97 (t, J = 6.7 Hz, CH-1 β Xyl, 1H), 5.11 (d, J = 9.3 Hz, CH β , 1H), 5.24 (d, J = 9.2 Hz, CH β , 1H), 5.31 (t, J = 9.5 Hz, CH β , 1H), 5.49 (t, J = 6.7 Hz, CH α , 1H), 5.78 (d, J = 4.3 Hz, CH-1 α , 1H), 6.65 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.81 (d, J = 1.9 Hz, CH Py α , 1H), 6.90 (d, J = 2.1 Hz, CH Py, 1H), 7.07 (ddd, J = 1.0 Hz, J = 7.1 Hz, J = 8.0 Hz, CH Ind, 1H) 7.16-7.32 (m, 2 \times CH Ind + 2 \times CH Py + 5 \times CH Bn, 9H), 7.46

(dd, $J = 0.9$ Hz, $J = 8.3$ Hz, CH Ind, 1H), 7.62 (d, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H). **^{13}C -RMN (100 MHz, CD_3OD):** δ 20.5 (CH_3 (AcO)), 20.6 (CH_3 (AcO)), 20.7 (CH_3 (AcO)), 26.9 ($\text{CH}_2\gamma$, α), 27.6 ($\text{CH}_2\gamma$, β), 29.5 (CH_2), 29.8 (CH_2), 30.2 (CH_2), 30.3 (CH_2), 30.5 (CH_2), 30.6 (CH_2), 30.7 (CH_2S), 32.1 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 32.8, 34.8 ($\text{CH}_2\gamma$), 36.8 (CH_2 Bn), 36.9 (CH_3), 39.9 ($\text{CH}_2\gamma$), 49.5 (CH_2N), 56.0 ($\text{CH}_2-5\beta$), 65.4 (CH), 70.4 (CH), 72.2 (CH), 74.5 (CH), 80.0 (C-1 β), 104.4, 106.1 (CH Py), 107.0 (CH Py), 113.1, 120.5, 121.20, 121.92, 123.52, 123.70, 124.11, 124.91, 125.40, 125.59, 126.59, 126.29, 126.48, 127.81, 129.13, 129.36, 129.95, 132.33, 138.45, 140.29, 161.22, 164.26, 171.60 y 172.80. **E. M. (ES +) m/z :** 1011.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 1012.2 $[\text{M} + 2]^+$.

1.10. Reacciones de desprotección de glico-oligoamidas Tipo I.

1.10.1. Reacciones de desbencilación

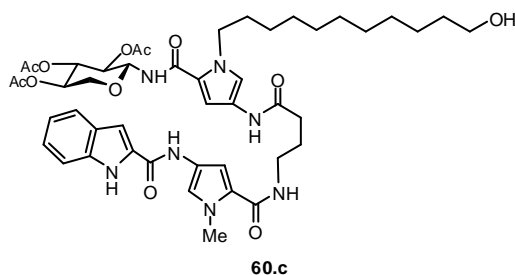
1.10.1.1. Preparación de **cHx-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$]- γ -Py(A)-Ind (2.a)**



Una mezcla de **cHx-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{OBn}$]- γ -Py(A)-Ind (3.a) (60 mg, 0.085 mmol) y Pd/C (5%) (180 mg) en metanol bajo atmosfera de hidrógeno a presión atmosférica se agita 10 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se filtra para eliminar el Pd/C y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad del producto obtenido: 40 mg. R = 90%. **P.f.** = 140-144 °C; **^1H -RMN (400 MHz, acetona- d_6):****

δ 1.16-1.44 (m, $\text{CH}_2 \times 7 + \text{CH}_2 \times 3 \text{ cHx}$, 20H), 1.44-1.55 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 2H), 1.62-1.80 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N} + \text{CH}_2 \text{ cHx}$, 4H), 1.84-1.95 (m, $\text{CH}_2\gamma_b + \text{CH}_2 \text{ cHx}$, 4H), 2.37 (t, $J = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{CH}_2\gamma_c$, 2H), 3.33-3.41 (m, $\text{CH}_2\gamma_a$, 2H), 3.42-3.46 (m, OH), 3.48-3.56 (m, CH_2O , 2H), 3.70-3.84 (m, CH-1 cHx, 1H), 3.90 (s, CH_3 , 3H), 4.28-4.36 (m, CH_2N , 2H), 6.63 (d, $J = 1.9 \text{ Hz}$, CH Py, 1H), 6.90 (d, $J = 1.9 \text{ Hz}$, CH Py, 1H), 7.03 (d, $J = 7.8 \text{ Hz}$, NH-5 cHx, 1H), 7.08 (ddd, $J = 1.0 \text{ Hz}$, $J = 7.0 \text{ Hz}$, $J = 8.0 \text{ Hz}$, CH Ind, 1H), 7.17-7.20 (sa, CH Ind, 1H), 7.20-7.27 (m, $2 \times \text{CH}$, 2H), 7.31 (d, $J = 1.9 \text{ Hz}$, CH Py, 1H), 7.56 (dd, $J = 0.8 \text{ Hz}$, $J = 8.3 \text{ Hz}$, CH Ind, 1H), 7.54-7.60 (sa, NH-3, 1H), 7.64 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, CH Ind, 1H), 9.66 (s, NH-4, 1H), 9.92 (s, NH-2, 1H), 10.81 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (125 MHz, acetona- d_6):** 27.1 ($2 \times \text{CH}_2$), 27.4 (CH_2), 27.6 (CH_2), 27.7 (CH_2), 28.7 (CH_2), 30.00-31.50 ($7 \times \text{CH}_2$), 33.6 (CH_2), 33.7 (CH_2), 35.6 (CH_2), 37.6 (CH_3), 40.4 ($\text{CH}_2 \gamma$), 49.8 (CH-1 cHx), 49.9 (CH_2N), 63.5 (CH_2O), 103.9 (CH Ind), 104.8 (CH Py), 105.3 (CH Py), 114.3 (CH Ind), 118.3 (CH Py), 119.9 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.5 (CH), 124.2 (C), 124.3 (C), 125.1 (C), 125.5 (C), 125.6 (CH Ind), 128.0 (C), 131.8 (CH Ind), 134.4 (C), 138.7 (C), 162.5 (CO), 163.6 (CO), 169.9 (CO), 171.3 (CO). **E. M. (ES + m/z):** 728.8 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 729.8 $[\text{M} + 2]^+$, 750 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **I.R. (KBr) (cm^{-1}):** (3000-3800), 2928, 2854, 1637, 1579, 1521, 1447, 1403, 1308, 1253, 1146, 853, 745 y 559. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{57}\text{N}_7\text{O}_5$: C: 67.65%; H: 7.89%; N: 13.47%; O: 10.99%. Hallado: C: 67.68%; H: 7.92%; N: 13.50%.

1.10.1.2. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.c)

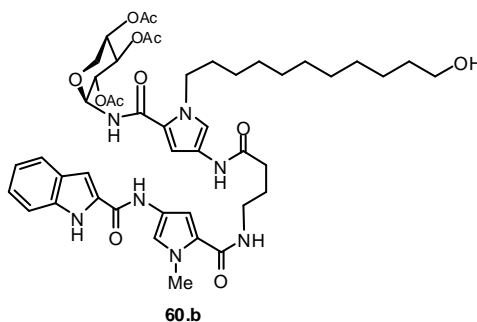


Compuesto sintetizado por el mismo método que el cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind²⁶ (2.a) a partir de (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.c) (185 mg, 0.186 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 140 mg. R = 85%. P.f. = 105-110 °C; [α]_D = -21° (c = 0.1, acetona); ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.20-1.38 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.46-1.54 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.66-1.74 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.91 (m, CH₂γ, 2H), 1.95 (s, CH₃, (AcO), 3H), 1.99 (s, CH₃, (AcO), 3H), 2.01 (s, CH₃, (AcO), 3H), 2.39 (t, J = 7.0 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.38 (dd, J = 6.4 Hz, J = 12.5 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.41-3.48 (m, OH, 1H), 3.53 (t, J = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.56 (dd, J = 19.7 Hz, J = 8.8 Hz, CH-5' Xyl, 1H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.00 (dd, J = 11.3 Hz, J = 5.6 Hz, CH-5 Xyl, 1H), 4.22-4.41 (m, CH₂N, 2H), 4.92 (dt, J = 10.2 Hz, J = 10.0 Hz, J = 5.6 Hz, CH-4 Xyl, 1H), 5.04 (t, J = 9.4 Hz, CH-2 Xyl, 1H), 5.35 (t, J = 9.6 Hz, CH-3 Xyl, 1H), 5.37 (t, J = 9.6 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.64 (d, J = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 6.91 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (t, J = 7.0 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.18-7.20 (s, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, J = 8.2 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.1 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.31 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.44 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.53-7.57 (sa, NH-3, 1H), 7.56 (dd, J = 8.3 Hz, J = 0.8 Hz, CH-

²⁶Sección: 1.10.1.1. Preparación de cHx-Py[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py-Ind (2.a)

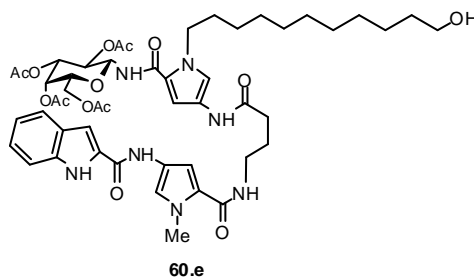
7 Ind, 1H), 7.61-7.67 (CH-4 Ind + NH-5, 2H), 9.33 (s, NH-4, 1H), 9.69 (s, NH-2, 1H), 10.84 (s, NH-1, 1H). ^{13}C -RMN (100 MHz, acetona- d_6): δ 21.6 ($\text{CH}_3 \times 2$ (AcO)), 21.7 (CH_3 (AcO)), 27.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 27.7 (CH_2), 28.2 (CH_2), 30.9 (CH_2) 31.1 (CH_2), 31.2 (CH_2), 31.2 (CH_2), 31.4 (CH_2), 33.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 34.8 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 35.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.6 (CH_3), 40.4 ($\text{CH}_2\gamma$), 50.3 (CH_2N), 63.5 (CH_2O), 65.8 (CH_2 -5 Xyl), 71.0 (CH Xyl), 72.8 (CH-4 Xyl), 74.6 (CH Xyl), 80.4 (CH-1 Xyl), 104.0 (CH Ind), 105.3 (CH Py), 106.1 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 120.4 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.1 (C), 123.5 (CH Ind), 124.1 (C), 124.7 (C), 125.6 (CH Ind), 129.8 (C), 133.7 (C), 138.8 (C), 160.2 (C), 160.2 (CO), 162.8 (CO), 163.6 (CO), 171.2 (CO), 171.3 (CO), 171.4 (CO), 171.6 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 904.3 $[\text{M} + 1]^+$, 905.3 $[\text{M} + 2]^+$, 926.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3420, 2926, 2854, 1755, 1646, 1580, 1524, 1440, 1404, 1370, 1260, 1063, 804, 747. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{61}\text{N}_7\text{O}_{12}$: C: 61.12%; H: 6.80%; N: 10.85%; O: 21.24%. Hallado: C: 61.18%; H: 6.84%; N: 10.90%.

1.10.1.3. Preparación de (AcO) $_3$ - α -Xyl-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OH]- γ -Py(A)-Ind (60.b)



Compuesto sintetizado por el mismo método que el **cHx-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OH]- γ -Py(A)-Ind (2.a)**²⁶ a partir de (AcO) $_3$ - α -Xyl-Py(B)[(CH $_2$) $_{11}$ OBn]- γ -Py(A)-Ind (**55.b**) (400 mg, 0.40 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna

en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 220 mg. R = 65%. **P.f.** = 105-110 °C, $[\alpha]_D^{20} = 28.20^\circ$ (c = 0.5, acetona); **$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, acetona- d_6):** δ 1.20-1.40 (m, $\text{CH}_2 \times 7$, 14H), 1.45-1.54 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 2H), 1.65-1.75 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 2H), 1.88-1.95 (m, $\text{CH}_2 \gamma$, 2H), 2.01 (s, CH_3 , (AcO), 3H), 2.02 (s, CH_3 , (AcO), 3H), 2.03 (s, CH_3 , (AcO), 3H), 2.39 (t, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_2 \gamma$, 2H), 3.35-3.43 (m, $\text{CH}_2 \gamma$, 2H), 3.43-3.48 (m, OH, 1H), 3.54 (m, CH_2O , 2H), 3.80-3.90 (m, CH_2 -5 Xyl, 2H), 3.93 (s, CH_3 , 3H), 4.30 (t, $J = 7.2$ Hz, CH_2N , 2H), 4.78-4.85 (m, CH-4 Xyl, 1H), 4.95 (dd, $J = 4.2$ Hz, $J = 7.4$ Hz, CH-3 Xyl, 1H), 5.45 (t, $J = 7.1$ Hz, CH-2 Xyl, 1H), 5.90 (dd, $J = 4.2$ Hz, $J = 9.4$ Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.85 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 7.20 (m, CH Ind, 1H), 7.24 (t, $J = 1.1$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.3$ Hz, CH Ind, 1H), 7.31 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.38 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.56 (d, $J = 8.3$ Hz, $J = 0.8$ Hz, CH Ind, 1H), 7.5-7.6 (sa, NH-3, 1H), 7.63 (d, $J = 8.1$ Hz, CH Ind, 1H), 8.02 (d, $J = 9.3$ Hz, NH-5, 1H), 9.30 (s, NH-4, 1H), 9.69 (s, NH-2, 1H), 10.84 (s, NH-1, 1H). **$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, acetone- d_6):** δ 20.4 ($\text{CH}_3 \times 2$ (AcO)), 20.4 (CH_3 (AcO)), 26.2 ($\text{CH}_2\gamma$), 26.3 (CH_2), 26.9 (CH_2), 28.9-30.0 ($\text{CH}_2 \times 5$), 32.3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 33.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 34.2 ($\text{CH}_2\gamma$), 36.3 (CH_3), 39.0 ($\text{CH}_2\gamma$), 48.9 (CH_2N), 62.1 (CH_2 -5 Xyl + CH_2O), 68.5 (CH-4 Xyl), 68.8 (CH-2 Xyl), 69.6 (CH-3 Xyl), 74.7 (CH-1 Xyl), 102.7 (CH-5 Ind), 104.4 (CH Py), 105.6 (CH Py), 112.7 (CH-4 Ind), 118.6 (CH Py), 118.8 (CH Py), 120.6 (CH Ind), 122.0 (C), 122.2 (CH Ind), 122.8 (C), 123.2 (C), 124.2 (C), 124.3 (CH Ind), 128.5 (C), 132.3 (C), 137.5 (C), 158.9 (CO), 161.8 (CO), 162.3 (CO), 169.6 (CO), 169.8 (CO), 170.0 (CO), 170.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 904.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 905.3 $[\text{M} + 2\text{H}]^+$, 926.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 927.3 $[\text{M} + \text{Na} + \text{H}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3420, 2926, 2854, 1755, 1646, 1580, 1524, 1440, 1404, 1370, 1260, 1063, 804, 747. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{61}\text{N}_7\text{O}_{12}$: C: 61.12%; H: 6.80%; N: 10.85%; O: 21.24%. Hallado: 61.10%; H: 6.84%; N: 10.88%.

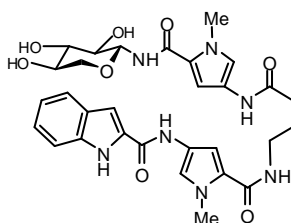
1.10.1.4. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.e)

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)**²⁶ a partir de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (**55.e**) (450 mg). El crudo se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de compuesto obtenido: 280 mg. R = 70%. **P.f.** := 100-102 °C; [α]_D = 22.10° (c = 0.2, acetona) **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.18-1.39 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.49-1.55 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.65-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.87-1.93 (m, CH₂γ_b, 2H), 1.94 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.96 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.97 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.98 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.37-2.43 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.33-3.42 (m, CH₂γ_c, 2H), 3.47-3.57 (m, CH₂O + OH, 3H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.02-4.16 (m, CH₂-6, 2H), 4.27-4.36 (m, CH₂N + CH-5 Gal, 3H), 5.21-5.33 (CH Gal × 2, 2H), 5.45 (dd, *J* = 0.9 Hz, *J* = 3.2 Hz, CH Gal, 1H), 5.52 (t, *J* = 9.3 Hz, CH-1 Gal, 1H), 6.74 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 6.93 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (t, *J* = 7.5 Hz, CH Ind, 1H), 7.22 (sa, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 0.9 Hz, CH Ind, 1H), 7.32 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.48 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py), 7.56 (dd, *J* = 0.6 Hz, *J* = 8.4 Hz, CH Ind, 1H), 7.49-7.57 (sa, NH-3, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.81 (d, *J* = 9.7 Hz, NH-5, 1H), 9.38 (s, NH-4, 1H), 9.74 (s, NH-2, 1H), 10.90 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 21.5 (CH₃ (AcO)),

21.6 (CH₃ (AcO)), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 27.6 (CH₂γ_b + CH₂), 28.3 (CH₂), (30.0-31.2) (4 × CH₂), 31.3 (CH₂), 33.6 (CH₂CH₂O), 34.8 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.7 (CH₃), 40.4 (CH₂γ), 50.3 (CH₂N), 63.1 (CH₂-6 Gal), 63.5 (CH₂O), 69.5 (CH Gal), 70.4 (CH Gal), 73.2 (CH Gal), 80.1 (CH-1 Gal), 104.1 (CH Ind), 105.4 (CH Py), 106.2 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 120.0 (CH Py), 120.6 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.0 (C), 123.5 (C), 123.6 (CH Ind), 124.0 (C), 125.6 (CH Ind), 129.8 (C), 133.6 (C), 138.8 (C), 160.3, 162.7, 163.6, 171.1 (CO), 171.5 (CO), 171.5 (CO), 171.7 (CO), 171.7 (CO). **E. M. (ES⁺) m/z:** 976.8 [M+1]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3000-3600, 2928, 2855, 1751, 1650, 1579, 1524, 1439, 1403, 1370, 1307, 1230, 1145, 1081, 1052, 810, 747 y 601. **Análisis elemental** calculado para **C₅₆H₇₁N₇O₁₄**: C: 63.08%; H: 6.71%; N: 9.20%; O: 21.01%. Hallado: C: 63.10%; H: 6.75%; N: 9.25%.

1.10.2. Reacciones de desacetilación

1.10.2.1. Preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)



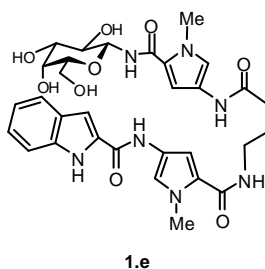
1.c

A una disolución de (AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.b/52.c) (α/β = 1:1) (100 mg, 0.133 mmol) en metanol (10 ml), se añade a 0° C una disolución de NaOMe (100 mg, 4.34 mmol) en metanol (10 ml). La reacción se agita 1 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1). Cantidad de

producto obtenido como mezcla ($\alpha/\beta = 1:1$): 66 mg. R = 80%. Los anómeros son separados por cromatografía. **Caracterización de (HO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c):** $[\alpha]_D = +5.5^\circ$ ($c = 1$, DMSO). **¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.78-1.80 (m, CH₂ γ , 2H), 2.28 (t, $J = 7.6$ Hz, CH₂ γ , 2H), 3.04 (t, $J = 10.8$ Hz, CH₂ γ , 2H), 3.10-3.36 (m, CH δ , 4H), 3.65 (m, CH, 1H), 3.77 (s, CH₃, 3H), 3.83 (s, CH₃, 3H), 4.77 (t, $J = 8.8$ Hz, CH-1, 1H), 4.86 (d, $J = 5.6$ Hz, OH), 4.95 (d, $J = 5.2$ Hz, OH), 5.04 (d, $J = 4.8$ Hz, OH), 6.83 (d, $J = 1.6$ Hz, CH Py, 1H), 6.89 (d, $J = 2.0$ Hz, CH Py, 1H), 7.05 (dd, $J = 6.8$ Hz, $J = 8.0$ Hz, CH, 1H), 7.17-7.21 (m, CH \times 2, 2H), 7.28 (sa, CH Py + CH Ind, 2H), 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, CH, 1H), 7.64 (d, $J = 8.0$ Hz, CH, 1H), 8.12 (t, $J = 5.6$ Hz, NH-3, 1H), 8.35 (d, $J = 8.8$ Hz, NH-5, 1H), 9.83 (s, NH-4, 1H), 10.31 (s, NH-2, 1H), 11.62 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (500 MHz, DMSO-d₆):** δ 26.6 (CH₂), 33.2 (CH₂), 35.9 (CH₃), 36.1 (CH₃), 38.2 (CH₂), 67.3 (CH₂), 69.7 (CH), 71.6 (CH), 77.6 (CH), 80.5 (CH-1), 102.8 (CH), 104.1 (CH), 104.6 (CH), 112.3 (CH), 118.1 (CH), 118.5 (CH), 119.7 (CH), 121.5 (CH), 121.6 (C), 121.9 (C), 122.2 (C), 123.2 (C), 123.3 (CH), 127.1 (C), 131.6 (C), 136.5 (C), 158.2 (C), 161.2 (C), 161.3 (C), 169.2 (C). **E. M. (ES +) m/z:** 622 [M + H]⁺, 644 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3401, 3269, 2930, 1630, 1576, 1530, 1463, 1440, 1402, 1319, 1263, 1233, 1207, 1151, 1053, 1007, 819, 747, 617. **Análisis elemental** calculado para C₃₀H₃₅N₇O₈: C%: 57.96; H%: 5.67; N%: 15.77. Hallado: C%: 57.89; H%: 5.68; N%: 15.69. **Caracterización de (HO)₃- α -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.b):** $[\alpha]_D = -7.8^\circ$ ($c = 0.11$, metanol). **¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.78-1.80 (m, CH₂ γ_b , 2H), 2.28 (t, $J = 7.4$ Hz, CH₂ γ_c , 2H), 3.21 (m, CH₂ γ_a , 2H), 3.30-3.76 (m, CH \times 5, 5H), 3.77 (s, CH₃, 3H), 3.83 (s, CH₃, 3H), 4.98 (s, OH, 1H), 5.04 (s, OH, 1H), 5.17 (s, OH, 1H), 5.36 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 3.2$ Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.80 (d, $J = 1.6$ Hz, CH Py, 1H), 6.89 (d, $J = 1.6$ Hz, CH Py, 1H), 7.05 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 7.17-7.21 (m, CH \times 2, 2H), 7.28 (sa, CH Ind + CH Py, 2H), 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, CH Ind, 1H), 7.64 (d, J

= 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.70 (d, J = 8.8 Hz, NH-5, 1H), 8.11 (t, J = 5.6 Hz, NH-3, 1H), 9.81 (s, NH-4, 1H), 10.32 (s, NH-2, 1H), 11.65 (s, NH-1, 1H). ^{13}C -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): δ 21.7 ($\text{CH}_2\gamma$), 33.3 ($\text{CH}_2\gamma$), 36.1 ($2 \times \text{CH}_3$), 38.2 ($\text{CH}_2\gamma$), 64.9 (CH_2), 68.8 (CH), 70.5 (CH), 70.6 (CH), 75.8 (CH), 102.9 (CH), 104.1 (CH), 104.6 (CH), 112.3 (CH), 118.1 (CH), 118.6 (C), 119.8 (CH), 121.5 (CH), 121.6 (CH), 122.0 (C), 122.1 (C), 123.2 (C), 123.4 (CH), 127.1 (C), 131.7 (C), 136.6 (C), 158.2 (CO), 161.1 (CO), 161.2 (CO), 169.3 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 622 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 644 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3338, 3020, 2926, 2855, 1717, 1666, 1530, 1464, 1215, 1051, 756, 668. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{O}_8$ (621.64): C%: 57.96; H%: 5.67; N%: 15.77. Hallado: C%: 57.99; H%: 5.75; N%: 15.81.

1.10.2.2. Preparación de (HO) $_4$ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.e)

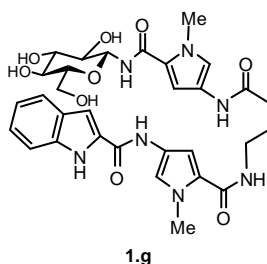


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)²⁷ a partir de (AcO) $_4$ - β -Gal-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.e) (92 mg, 0.112 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en CH_2Cl_2 :MeOH (5:1). Cantidad de producto obtenido: 50 mg. R = 65 %. **P.f.** = 200 °C, $[\alpha]_D^{20} = +23.7^\circ$ (c = 1.35, DMSO- d_6); ^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1.78-1.80 (m, $\text{CH}_2\gamma_b$, 2H), 2.26-2.30 (m, $\text{CH}_2\gamma_a$, 2H), 3.22 (m, $\text{CH}_2\gamma_c$, 2H), 3.30-

²⁷ Sección: 1.10.2.1. Preparación de (HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)

3.54 (m, 3H), 3.57-3.64 (m, 2H), 3.70 (d, $J = 2.7$ Hz, CH, 1H), 3.79 (s, CH₃, 3H), 3.84 (s, CH₃, 3H), 4.83 (t, $J = 8.9$ Hz, CH, 1H), 6.85 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 6.89 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.05 (t, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 7.19-7.21 (m, CH \times 2, 2H), 7.28 (s, CH \times 2, 2H), 7.53 (d, $J = 8.2$ Hz, CH Ind, 1H), 7.64 (d, $J = 8.2$ Hz, CH Ind, 1H), 8.12 (t, $J = 5.7$ Hz, NH-3), 8.36 (d, $J = 8.8$ Hz, NH-5, 1H), 9.83 (s, NH, 1H), 10.30 (s, NH, 1H), 11.61 (d, $J = 1.5$ Hz, NH, 1H). **¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆):** 25.6 (CH₂γ), 33.3 (CH₂γ), 36.0 (CH₃), 36.1 (CH₃), 38.2 (CH₂γ), 60.4 (CH₂), 66.3 (CH), 69.1 (CH), 74.3 (CH), 76.6 (CH), 80.1 (CH-1), 102.8 (CH), 104.1 (CH), 104.5 (CH), 112.2 (CH), 118.0 (CH), 118.4 (CH), 119.6 (CH), 121.4 (CH), 121.5 (C), 121.8 (C), 122.2 (C), 123.2 (CH), 127.0 (C), 131.5 (C), 136.5 (C), 141.3 (C), 158.1 (CO), 161.1 (CO), 161.1 (CO), 169.2 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 653 [M + H]⁺, 675 [M + Na]⁺, 1304 [2M + H]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3600-2500, 1643, 1584, 1530. **Análisis elemental** calculado para C₃₁H₃₇N₇O₉ + 2H₂O: C: 54.14%; H: 6.01%; N: 14.26%. Hallado: C: 54.14%; H: 6.02%; N: 14.35%.

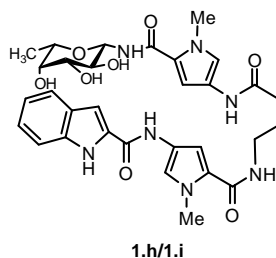
1.10.2.3. Preparación de (HO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.g)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)²⁷ a partir de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.g) (100 mg, 0.122 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1). Cantidad de producto obtenido: 50 mg. R = 65%. **P.f.** =

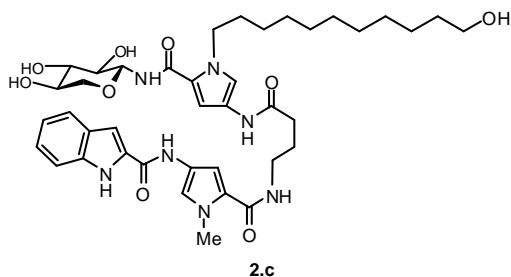
196-197 °C, $[\alpha]_D = +12.9^\circ$ ($c = 0.760$, DMSO- d_6). **^1H -RMN (200 MHz, DMSO- d_6):** 1.78-1.80 (m, $\text{CH}_2\gamma_b$, 2H), 2.28-2.30 (m, $\text{CH}_2\gamma_c$, 2H), 3.19-3.21 (m, $\text{CH}_2\gamma_a$, 2H), 3.63-3.65 (m, CH, 1H), 3.79 (s, CH_3 , 3H), 3.84 (s, CH_3 , 3H), 4.51 (t, $J = 5.7$ Hz, CH, 1H), 4.81 (d, $J = 5.3$ Hz, CH, 1H), 4.87 (d, $J = 4.4$ Hz, CH, 1H), 4.96 (d, $J = 4.0$ Hz, CH, 1H), 6.85 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.05-7.07 (m, CH, 1H), 7.18-7.20 (m, $\text{CH} \times 2$, 2H), 7.28 (s, $\text{CH} \times 2$, 2H), 7.46 (d, $J = 8.2$ Hz, CH, 1H), 7.65 (d, $J = 7.9$ Hz, CH Ind, 1H), 8.13 (t, $J = 4.9$ Hz, NH, 1H), 8.36 (d, $J = 8.8$ Hz, CH Ind, 1H), 9.82 (s, NH, 1H), 10.29 (s, NH, 1H), 11.60 (s, NH, 1H). **^{13}C -RMN (200 MHz, DMSO- d_6):** δ 25.6 ($\text{CH}_2\gamma$), 33.3($\text{CH}_2\gamma$), 35.8 (CH_3), 36.0 (CH_3), 38.2($\text{CH}_2\gamma$), 61.0 (CH_2^6), 70.1 (CH), 71.8 (CH), 77.6 (CH), 78.4 (CH), 79.6 (C-1), 103.2 (CH Ind), 104.1 (CH Py), 104.5 (CH Py), 112.5 (CH Ind), 118.2 (CH Py), 119.6 (CH Py), 121.5 (CH Ind), 121.8 (CH Ind), 121.8 (C), 122.2 (C), 123.2 (C), 123.2 (CH), 127.0 (C), 131.6 (C), 136.5 (C), 141.3 (C), 158.1 (CO), 161.1 (CO), 161.1 (CO), 169.6 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 652 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 674 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1304 $[2\text{M} + \text{H}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3600-2800, 1638, 1584, 1532. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{O}_9$: C%: 57.14; H%: 5.72; N%: 15.05. Hallado: C%: 57.19; H%: 5.68; N%: 15.1.

1.10.2.4. Preparación de (HO)₃- β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.h/1.i)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **(HO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)**²⁷ a partir de **(AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i)** ($\alpha/\beta = 1:3$) (100 mg, 0.131 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1). Cantidad de producto obtenido como mezcla $\alpha/\beta = 1:3$: 58 mg. R = 70%. El anómero β puede ser separado por cromatografía: 30 mg. R = 36%. **Caracterización de (HO)₃- β -L-Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.i)**: $[\alpha]_D = -21.43^\circ$ ($c = 0.1$, DMSO), **¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆)**: δ 1.10 (d, $J = 6.3$ Hz, CH₃, 3H), 1.78-1.80 (m, CH₂ γ_b , CH₂, 2H), 2.27-2.29 (m, CH₂ γ_c , 2H), 3.20-3.24 (m, CH₂ γ_a , 2H), 3.15-3.60 (m, CH \times 4, 4H), 3.79 (s, CH₃, 3H), 3.84 (s, CH₃, 3H), 4.37 (d, $J = 4.2$ Hz, OH, 1H), 4.58 (d, $J = 5.1$ Hz, OH, 1H), 4.67 (d, $J = 5.7$ Hz, OH, 1H), 4.80 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 9.0$ Hz, CH, 1H), 6.84 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 6.89 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.05 (t, $J = 7.4$ Hz, CH Ind, 1H), 7.16-7.22 (m, CH \times 2, 2H), 7.27 (s, CH \times 2, 2H), 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, CH Ind, 1H), 7.64 (d, $J = 7.5$ Hz, CH Ind, 1H), 8.08 (t, $J = 5.4$ Hz, NH, 1H), 8.29 (d, $J = 8.7$ Hz, NH, 1H), 9.79 (s, NH, 1H), 10.27 (s, NH, 1H), 11.59 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (75 MHz, DMSO-d₆)**: δ 16.7 (CH₃), 25.6 (CH₂), 33.2 (CH₂), 36.1 (CH₃), 36.2 (CH₃), 38.2 (CH₂), 68.8 (CH), 71.2 (CH), 71.4 (CH), 74.5 (CH), 80.0 (CH), 102.9 (CH), 104.1 (CH), 104.5 (CH), 112.3 (CH), 118.1 (CH), 118.5 (CH), 119.7 (CH), 121.5 (CH), 121.6 (C), 121.9 (C), 122.2 (C), 123.2 (C), 123.3 (CH), 127.1 (C), 131.7 (C), 136.6 (C), 158.2 (CO), 161.2 (CO), 161.3 (CO), 169.2 (CO). **E. M. (ES +) m/z**: 636 [M + H]⁺, 658 [M + Na]⁺, 1272 [2M + 2H]⁺, 1293 [2M + Na]⁺. **I.R. (KBr) (cm⁻¹)**: 3401, 2932, 2461, 2390, 1643, 1581, 1530, 1462, 1403, 1307, 1251, 1146, 1073, 746, 579. **Análisis elemental** calculado para **C₃₁H₃₇N₇O₈**: C: 58.57%; H: 5.87%; N: 15.82%. Hallado: C: 58.55%; H: 5.99%; N: 15.98%.

1.10.2.5. Preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B) [(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.c)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)²⁷ a partir de (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.c) (15 mg, 0.016 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1). Cantidad de producto obtenido: 10 mg. R = 80%. [α]_D = -14.13° (c = 0.1, acetona); ¹H-RMN (500 MHz, acetona-d₆): δ 1.18-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.52-1.65 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.65-1.79 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.91 (dt, *J* = 13.7 Hz, CH₂ γ_b, 2H), 2.38 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.28 (dd, *J* = 9.4 Hz, *J* = 11.30 Hz, CH-5_{ax} Xyl, 1H), 3.38 (dd, *J* = 6.4 Hz, *J* = 12.5 Hz, CH₂γ, 2H), 3.46 (t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.42-3.50 (m, CH-2, CH-3 y CH-4 Xyl, 3H), 3.82 (dd, *J* = 4.7 Hz, *J* = 11.4 Hz, CH-5_{ec} Xyl, 1H), 3.91 (s, CH₃, 3H), 4.24-4.36 (m, CH₂N, 2H), 5.07 (t, *J* = 8.5 Hz, CH-1 β Xyl, 1H), 6.82-6.85 (sa, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.93 (d, *J* = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 7.07 (t, *J* = 7.5 Hz, CH Ind, 1H), 7.20 (d, *J* = 1.3 Hz, CH Ind, 1H), 7.23 (dd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.32 (d, *J* = 1.5 Hz, CH Py, 1H), 7.33 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.51-7.60 (sa, NH-3, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.1 Hz, CH Ind, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.2 Hz, NH-5, 1H), 9.30 (s, NH-4, 1H), 9.80 (s, NH-2, 1H), 10.96 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (125 MHz, acetona-d₆): δ 27.6 (CH₂γ), 28.0 (CH₂), 28.4 (CH₂), 30.9 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.4 (CH₂),

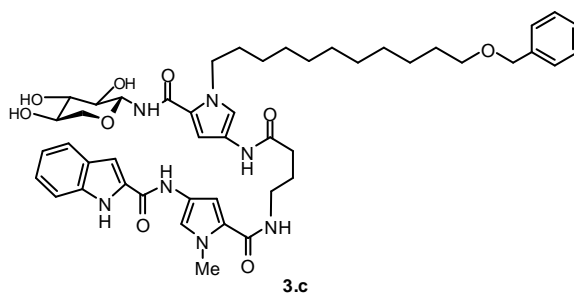
1.10.2.6. Preparación de (HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.e)



321

$J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_2\gamma_a$, 2H), 3.38 (dd, $J = 6.2$ Hz, $J = 12.3$ Hz, $\text{CH}_2\gamma_c$, 2H), 3.43 (t, $J = 7.4$ Hz, OH, 1H), 3.55-3.47 (m, CH_2O , 2H), 3.55-3.76 (m, $\text{CH} \times 5$ Gal, 5H), 3.92 (s, CH_3 , 3H), 3.91-3.94 (m, CH Gal, 1H), 4.07-4.13 (m, CH_2N , 2H), 5.06 (t, $J = 9.0$ Hz, CH-1 Gal, 1H), 6.89 (d, $J = 1.4$ Hz, CH Py, 1H), 6.95 (sa, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, $J = 0.8$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.9$ Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.22 (sa, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.1$ Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.34 (d, $J = 1.5$ Hz, CH Py, 1H), 7.40 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.57 (dd, $J = 0.8$ Hz, $J = 8.3$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.62 (s, NH, 1H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 9.40 (s, NH, 1H), 9.89 (s, NH, 1H), 11.05 (s, NH, 1H). **E. M. (ES +) m/z:** 808.9 [M + H]⁺, 830.9 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3000-3600, 2961, 2917, 2851, 1736, 1650, 1440, 1259, 1025.

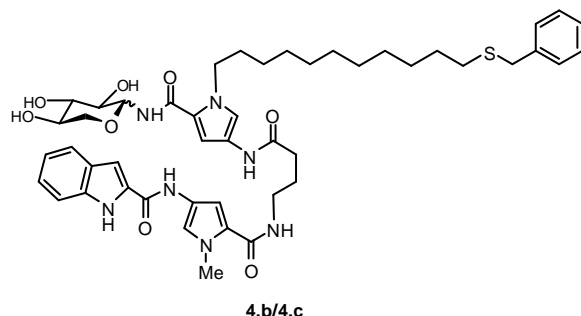
1.10.2.7. Preparación de **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.c)**



Compuesto sintetizado con el mismo procedimiento que el compuesto **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)**²⁷ a partir de **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (55.c)** (16 mg, 0.016 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1) para obtener **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (3.c)**. Cantidad de producto obtenido: 11 mg (sólido blanco). R = 80%. **P.f.** = 100-105 °C; **[α]_D** = -15.80° (c = 0.1, acetona); **¹H-RMN (500 MHz,**

acetona-d₆): δ 1.20-1.33 (m, CH₂ \times 6, 12H), 1.33-1.40 (m, CH₂, 2H), 1.54-1.62 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.68-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.87-1.95 (m, CH₂ γ_b , 2H), 2.38 (t, J = 7.0 Hz, CH₂ γ , 2H), 3.28 (dd, J = 9.4 Hz, J = 11.3 Hz, CH-5_{ax}. Xyl, 1H), 3.36-3.40 (m, CH₂ γ , 2H), 3.46 (t, J = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.42-3.50 (m, CH-2, CH-3 y CH-4 Xyl, 3H), 3.82 (dd, J = 4.7 Hz, J = 11.4 Hz, CH-5_{ec}. Xyl, 1H), 3.91 (s, CH₃, 3H), 4.24-4.36 (m, CH₂N, 2H), 4.48 (s, CH₂ Bn, 2H), 5.07 (t, J = 8.5 Hz, H-1 β Xyl, 1H), 6.81 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.92 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (t, J = 7.5 Hz, CH Ind, 1H), 7.20 (d, J = 1.5 Hz, CH Ind, 1H), 7.24 (ddd, J = 1.0 Hz, J = 7.0 Hz, J = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.30 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.32 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.31-7.36 (m, CH \times 5 Bn, 5H), 7.56 (dd, J = 8.3 Hz, J = 0.7 Hz, CH Ind, 1H), 7.56-7.60 (sa, NH-3, 1H), 7.63 (d, J = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.72 (d, J = 9.1 Hz, NH-5, 1H), 9.30 (s, NH-4, 1H), 9.70 (s, NH-2, 1H), 10.80 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (125 MHz, acetona-d₆)**: δ 27.6 (CH₂ γ), 27.9 (CH₂), 28.4 (CH₂), 30.9 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.4 (CH₂), 31.5 (CH₂), 31.5 (CH₂), 33.7 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂ γ), 37.6 (CH₃), 40.4 (CH₂ γ), 50.3 (CH₂N), 68.8 (CH₂-5 Xyl), 71.9 (CH Xyl + CH₂O), 72.0 (CH-2 Xyl), 74.1 (CH₂ Bn), 74.2 (CH Xyl), 79.4 (CH-1 Xyl), 104.2 (CH Ind), 105.5 (CH Py), 106.1 (CH Py), 114.6 (CH Py), 119.8 (CH Py), 120.0 (CH Ind), 120.9 (CH Ind), 121.9 (C), 123.5 (CH Ind), 123.8 (C), 124.1 (C), 124.5 (C), 125.5 (C), 125.6 (CH Ind), 129.0 (CH Bn), 129.1 (CH \times 2 Bn), 129.8 (C), 130.0 (CH \times 2 Bn), 133.7 (C), 141.1 (C), 163.8 (CO \times 2), 171.5 (CO \times 2). **E. M. (ES +) m/z**: 868.3 [M + H]⁺, 869.3 [M + 2]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 3401, 2962, 2926, 2854, 1672, 1532, 1451, 1261, 1096, 1028, 802, 747, 698. **Análisis elemental** calculado para **C₄₇H₆₁N₇O₉**: C: 65.03%; H: 7.08%; N: 11.30%; O: 16.59%. Hallado: C: 65.13%; H: 7.10%; N: 11.32%.

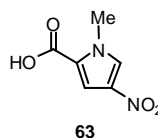
1.10.2.8. Preparación de **(HO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (4.b/4.c)**



Compuesto sintetizado con el mismo procedimiento que el compuesto **(HO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.c)**²⁷ a partir de **(AcO)₃- α/β -Xyl Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (56.b/56.c)** ($\alpha/\beta = 1/1$): (42 mg, 0.048 mmol). Purificación por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1). Cantidad de producto **(HO)₃- α/β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (4.b/4.c)** obtenido con una relación ($\alpha/\beta = 1/1$): 26 mg. R = 54%. Una cantidad analítica del anómero β fue aislado y caracterizado. **Caracterización de (HO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁SBn]- γ -Py(A)-Ind (4.c):** $[\alpha]_D = -14.60^\circ$ (c = 0.1, metanol); **¹H-RMN (500 MHz, CD₃OD):** δ 1.10-1.40 (m, CH₂ \times 7, 14H), 1.45-1.65 (m, CH₂CH₂S + CH₂CH₂N, 4H), 1.97 (m, CH₂ γ , 2H), 2.44-2.51 (m, CH₂ γ + CH₂S, 4H), 3.35-3.43 (m, CH₂ γ , 2H), 3.43-3.58 (m, CH-2, CH-3 y CH-4 Xyl, 3H), 3.62-3.66 (m, CH-5 Xyl, 1H), 3.68 (s, SCH₂Bn, 2H), 3.69-3.85 (m, CH-5' Xyl, 1H), 3.87 (s, CH₃, 3H), 4.17-4.30 (m, CH₂N, 2H), 4.97 (t, $J = 6.7$ Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.81 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.07 (t, $J = 7.5$ Hz, CH Ind, 1H) 7.18-7.42 (m, 2 \times CH Ind + 2 \times CH Py + 5 \times CH Bn, 9H), 7.46 (d, $J = 8.2$ Hz, CH Ind, 1H), 7.63 (d, $J = 8.0$ Hz, CH Ind, 1H), 7.95 (d, $J = 6.7$ Hz, NH, 1H). **¹³C-RMN (125 MHz, CD₃OD):** δ 27.0 (CH₂ γ_b), 27.8 (CH₂), 28.6 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.3 (CH₂), 30.3

(CH₂), 30.4 (CH₂), 30.7 (CH₂), 31.7 (CH₂S), 32.1 (CH₂), 32.9 (CH₂), 34.9 (CH₂γ), 36.4 (CH₃), 36.7 (CH₂Bn), 39.6 (CH₂γ), 49.7 (CH₂N), 68.3 (CH₂-5 Xyl), 70.8 (CH Xyl), 72.9 (CH Xyl), 78.6 (CH Xyl), 81.7 (CH-1 Xyl), 104.1 (CH Ind), 104.5 (CH Py), 106.2 (CH Py), 113.1 (CH Ind), 118.1 (CH Py), 119.1 (CH Py), 120.5 (C), 120.6 (C), 121.3 (CH Ind), 122.2 (CH Ind), 122.8 (C), 123.2 (C), 125.3 (CH Ind), 127.9 (CH), 129.4 (CH × 2), 130.0 (CH × 2), 140.3 (C), 164.2 (CO), 172.9 (CO), 173.1 (CO), 174.1 (CO). **E.M. (ES +) m/z:** 885.1 [M + H]⁺, 886.1 [M + 2H]⁺, 907.1 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3369, 2923, 2851, 2349, 1648, 1450.

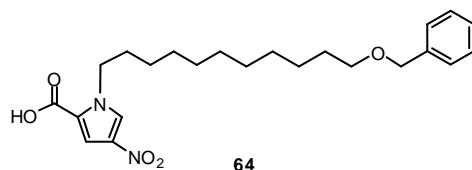
1.11. Preparación de **HO-Py(B)-NO₂ (63)**²⁸



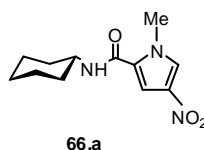
A una disolución de **MeO-Py(B)-NO₂ (17)** (1.0 g, 5.88 mmol) en THF (4 ml) se añade lentamente una disolución de LiOH·H₂O (1.0 g, 41.11 mmol) en H₂O (3 ml). Se agita durante 24 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (1M) hasta pH neutro y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Cantidad de producto obtenido: 865 mg (sólido blanco). R = 95%. **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃):** 3.98 (s, CH₃, 3H), 7.41 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.60 (d, *J* = 1.0 Hz, CH Py, 1H).

²⁸ Otsuka, M.; Masuda, T.; Haupt, A.; Ohno, M.; Shiraki, T.; Sugira, Y.; Maeda, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 838-845.

1.12. Preparación de HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)

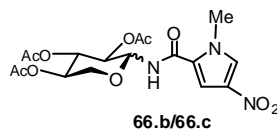


A una disolución de EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (18) (410 mg, 0.92 mmol) en dioxano (8 ml) se añade lentamente una disolución de LiOH·H₂O (1.16 g, 41.94 mmol). Se agita durante 24 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se añade una disolución de HCl (1M) hasta pH neutro y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Cantidad de producto obtenido: 360 g (sólido blanco). R = 95%. P.f. = 105-110 °C; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.20-1.41 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.56-1.67 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.74-1.87 (m, CH₂CH₂N, 2H), 3.48 (t, J = 6.6 Hz, CH₂O, 2H), 4.34 (t, J = 7.3 Hz, CH₂N, 2H), 4.52 (s, CH₂ Bn, 2H), 7.25-7.35 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.56 (d, J = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 7.67 (d, J = 2.0 Hz, CH Py, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 26.0 (CH₂), 26.2 (CH₂), 28.9 (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.6 (CH₂), 30.9 (CH₂), 50.6 (CH₂), 70.4 (CH₂), 72.7 (CH₂), 114.8 (CH Py), 121.4 (CH Py), 127.5 (CH Bn), 127.6 (C), (CH × 2 Bn), 127.6 (CH × 2 Bn), 128.3 (CH × 2 Bn), 135.4 (C), 138.3 (C), 164.1 (CO). E. M. (ES +) m/z: 417.5 [M + H]⁺, 418.5 [M + 2H]⁺, 439.5 [M + Na]⁺. Análisis Elemental: calculado para C₂₃H₃₂N₂O₅: C: %C: 66.32, %H: 7.74, %N: 6.73. Hallado: C: 66.29%, H: 7.83%, N: 6.72%.

1.13. Formación del enlace amidoglicosídico. Obtención de los compuestos IV**1.13.1. Preparación de cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)**

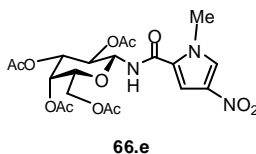
Una disolución de **HO-Py(B)-NO₂ (63)** (466 mg, 1.84 mmol), HOBt (376 mg, 2.78 mmol) y DIPC (0.435 ml, 2.78 mmol) en DMF anhidra (3 ml) se agita 24 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, a esta disolución se le añade **cHx-NH₂ (51)** (200 mg, 2.01 mmol); después de 16 horas el residuo se lava con una disolución saturada de NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:1) para obtener **cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)**: 556 mg (sólido blanco). R = 90%. **P.f.** = 200-210 °C; **¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆)**: δ 1.08-1.32 (m, CH₂ × 2, 4H), 1.59 (m, CH₂ 2H), 1.68-1.81 (m, CH₂ × 2, 4H), 3.67 (m, CH-1 cHx, 1H), 3.89 (s, CH₃, 3H), 7.48 (d, *J* = 2.1 Hz, CH Py, 1H), 8.10 (d, *J* = 2.1 Hz, CH Py, 1H), 8.15 (d, *J* = 7.9 Hz, NH, 1H). **¹³C-RMN (300 MHz, DMSO-d₆)**: δ 24.9 (CH₂ 2), 25.3 (CH₂), 32.4 (CH₂ × 2), 37.4 (CH₃), 47.8 (CH-1), 107.3 (CH), 126.6 (CH), 127.8 (C), 133.7 (C), 158.9 (CO). **E. M. (ES +) m/z**: 252 [M + H]⁺, 274 [M + Na]⁺, 525 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 3277, 3140, 2929, 2850, 1649, 1634, 1562, 1538, 1502, 1419, 1323. **Análisis elemental** calculado para **C₁₂H₁₇N₃O₃**: C: 57.36%; H: 6.82%; N: 16.72%; Hallado: C: 57.46%; H: 7.04%; N: 16.59%.

1.13.2. Preparación de (AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)-NO₂ (66.b/66.c)



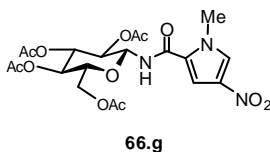
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NO₂** (66.a)²⁹ a partir de **HO-Py(B)-NO₂** (63) (525 mg, 3.09 mmol) y (AcO)₃- β -Xyl-NH₂ (36) (1.1 g, 3.35 mmol). El producto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto obtenido: 1.0 g. El compuesto (AcO)₃- α/β -Xyl-Py(B)-NO₂ (66.b/66.c) se obtiene como una mezcla α/β (1/1.8). R = 70%. Una cantidad analítica del anómero β puede ser aislado para su caracterización. **Caracterización de (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)-NO₂ (66.c):** [α]_D = -53.9° (*c* = 1, cloroformo); ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): δ 2.05 (s, CH₃, 3H), 2.10 (s, CH₃, 3H), 2.11 (s, CH₃, 3H), 3.47 (dd, *J* = 10.8 Hz, *J* = 11.2 Hz, CH, 1H), 3.99 (s, CH₃, 3H), 4.11 (dd, *J* = 5.4 Hz, *J* = 11.4 Hz, CH, 1H), 5.05 (m, CH, 1H), 5.07 (t, *J* = 9.4 Hz, CH, 1H), 5.22 (dd, *J* = 8.8 Hz, *J* = 9.2 Hz, CH-1, 1H), 5.38 (dd, *J* = 9.4 Hz, *J* = 9.6 Hz, CH, 1H), 7.19 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.6 Hz, NH, 1H), 7.58 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H). ¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 20.4 (CH₃), 20.5 (CH₃), 20.7 (CH₃), 38.1 (CH₃), 64.3 (CH₂-5), 68.9 (CH), 71.2 (CH), 72.3 (CH), 78.5 (CH-1), 108.7 (C), 124.8 (C), 127.5 (CH), 135.1 (CH), 160.4 (CONH), 169.9 (CO (AcO)), 170.1 (CO (AcO)), 171.8 (CO (AcO)). **E. M. (ES +) m/z:** 428 [M + H]⁺, 450 [M + Na]⁺, 687 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3374, 3135, 2958, 1749, 1678, 1546, 1529, 1421, 1369, 1313, 1224, 1149, 1112, 1038, 1066, 751, 607. **Análisis elemental** calculado para C₁₇H₂₁N₃O₁₀: C%: 47.78; H%: 4.95; N%: 9.83. Hallado: C%: 47.78; H%: 4.95; N%: 9.66.

²⁹ 1.13.1. Preparación de **cHx-Py-NO₂** (66.a)

1.13.3. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NO₂ (66.e)

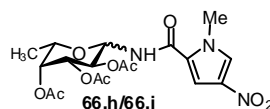
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)**²⁹ a partir de **HO-Py(B)-NO₂ (63)** (108 mg, 0.634 mmol) y **(AcO)₃-β-Gal-NH₂ (39)** (240 mg, 0.697 mmol). El producto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto obtenido: 275 mg (sólido blanco). R = 87%. **P.f.** = 180-182 °C, **[α]_D** = +3.29° (*c* = 2.47, acetona); **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃)**: δ 1.92 (s, CH₃ × 2, 6H), 1.99 (s, CH₃, 3H), 2.13 (s, CH₃, 3H), 3.90 (s, CH₃, 3H), 4.01-4.03 (m, 2H), 4.36 (t, *J* = 6.1 Hz, CH, 1H), 5.36-5.21 (m, 3H), 5.50 (t, *J* = 9.2 Hz, CH, 1H), 7.58 (d, *J* = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 8.18 (d, *J* = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 9.21 (d, *J* = 9.5 Hz, NH, 1H). **¹³C-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆)**: δ 20.4 (CH₃), 20.5 (CH₃), 20.6 (CH₃), 20.7 (CH₃), 37.7 (CH₃), 61.4 (CH₂), 67.6 (CH), 68.2 (CH), 71.0 (CH), 71.4 (CH), 77.3 (CH-1), 109.1 (C), 125.0 (C), 128.8 (CH), 133.9 (CH), 159.9 (CONH), 169.2 (CO), 169.5 (CO), 170.0 (CO), 170.0 (CO). **E. M. (ES +) m/z**: 500 [M + H]⁺, 522 [M + Na]⁺, 1021[2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 1750, 1729, 1688, 1537, 1368, 1315. **Análisis elemental** calculado para **C₂₀H₂₅O₁₂N₃**: C: 48.10%; H: 5.05%; N: 8.41% Hallado: C: 48.40%; H: 5.35%; N: 8.56%.

1.13.4. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NO₂ (66.g)



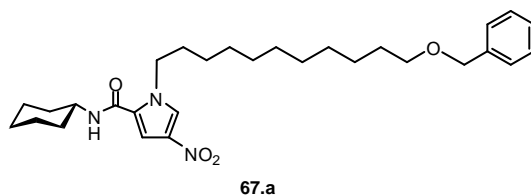
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)**²⁹ a partir de **HO-Py(B)-NO₂ (63)** (100 mg, 0.588 mmol) y **(AcO)₃-β-Glc-NH₂ (38)** (225 mg, 0.646 mmol). El producto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto obtenido: 260 mg. R = 89%. **P.f.** = 185-186 °C, **[α]^D** = -36.7° (*c* = 1.64, acetona); **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃):** δ 1.92 (s, CH₃, 3H), 1.95 (s, CH₃, 3H), 2.00 (s, CH₃ × 2, 6H), 3.91 (s, CH₃, 3H), 3.96-4.23 (m, 4H), 4.92 (dd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 9.9 Hz, CH, 1H), 5.03 (dd, *J* = 9.3 Hz, *J* = 9.5 Hz, CH, 1H), 5.40 (dd, *J* = 9.5 Hz, *J* = 9.5 Hz, CH, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 8.18 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 9.14 (d, *J* = 9.3 Hz, NH, 1H). **¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃):** δ 20.2 (CH₃), 20.3 (CH₃), 20.4 (CH₃), 20.5 (CH₃), 37.3 (CH₃), 61.6 (CH₂), 67.8 (CH), 70.5 (CH), 72.1 (CH), 72.9 (CH), 77.0 (C-1), 106.7 (CH), 124.9 (CH), 128.6 (C), 133.8 (C), 159.8 (CONH), 168.9 (CO(AcO)), 169.2 (CO(AcO)), 169.4 (CO(AcO)), 169.8 (CO(AcO)). **E. M. (ES +) m/z:** 500 [M + H]⁺, 522 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 1750, 1530, 1314, 1232. **Análisis elemental** calculado para **C₂₀H₂₅N₃O₁₂**: C%: 48.10; H%: 5.05; N%: 8.41. Hallado: C%: 47.96; H%: 5.22; N%: 8.32.

1.13.5. Preparación de (AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NO₂** (66.a)²⁹ a partir de **HO-Py(B)-NO₂** (63) (476 mg, 2.80 mmol) y (AcO)₃- β -L-Fuc-NH₂ (37) (960 mg, 3.04 mmol); después de 16 h. el residuo se lava con una disolución saturada de NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:1) para obtener (AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i) como mezcla de isómeros ($\alpha/\beta = 1/3$). Cantidad de compuesto obtenido: 789 mg. R = 69%. Estos isómeros no consiguieron ser separados. ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) de (AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i): δ 1.18 (d, $J = 6.4$ Hz, CH₃, 3H), 1.21 (d, $J = 6.4$ Hz, CH₃, 3H), 2.01 (s, CH₃, 3H), 2.02 (s, CH₃, 3H), 2.05 (s, CH₃, 3H), 2.06 (s, CH₃, 3H), 2.19 (s, 2 \times CH₃, 6H), 3.97-3.99 (m, CH, 1H), 3.98 (s, CH₃, 3H), 4.00 (s, CH₃, 3H), 4.11-4.13 (m, CH, 1H), 5.15-5.44 (m, 7 \times CH, 7H), 6.01 (dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 7.6$ Hz, CH), 6.89 (d, $J = 7.8$ Hz, NH, 1H), 6.93 (d, $J = 8.2$ Hz, NH, 1H), 7.12 (d, $J = 1.8$ Hz, CH), 7.31 (d, $J = 2.0$ Hz, CH), 7.58 (d, $J = 1.4$ Hz, CH), 7.61 (d, $J = 1.8$ Hz, CH). ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃): δ 16.0 (CH₃), 20.5 (CH₃ (AcO)), 20.7 (CH₃ (AcO)), 23.3 (CH₃ (AcO)), 38.0 (CH₃), 68.4 (CH), 70.2 (CH), 70.8 (CH), 71.0 (CH), 78.5 (CH), 108.2 (CH), 124.8 (C), 127.5 (CH), 135.0, (C) 160.1 (CO), 169.8 (CO), 170.4 (CO), 171.7 (CO).

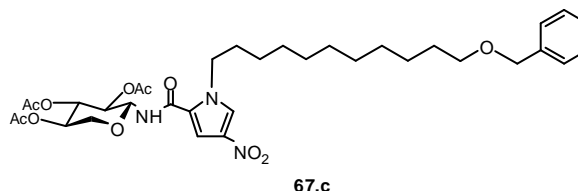
1.13.6. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.a)**



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)**²⁹ a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)** (132 mg, 0.318 mmol) y **cHx-NH₂** (72 μ l, 0.637 mmol) en DMF (5 ml). La reacción se agita 96 h a t. a. Transcurrido este tiempo, se añade una disolución saturada de CuSO₄ y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (6:1). Cantidad de producto obtenido: 125 mg (aceite). R = 80%. **¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.10-1.52 (m, CH₂ \times 7 + CH₂ \times 2 cHx, 18H), 1.52-1.70 (m, CH₂CH₂O + CH₂ \times 2 cHx, 4H), 1.70-1.84 (m, CH₂CH₂N + CH₂ \times 2 cHx, 4H), 1.92-2.04 (m, CH₂ cHx, 2H), 3.46 (t, J = 6.6 Hz, CH₂O, 2H), 3.78-3.94 (m, CH cHx, 1H), 4.30-4.37 (m, CH₂N, 2H), 4.50 (s, CH₂ Bn, 2H), 5.85 (d, J = 8.1 Hz, NH, 1H), 7.02 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.23-7.36 (m, CH \times 5 Bn, 5H), 7.56 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ 24.8 (CH₂ \times 2), 25.4 (CH₂), 26.1 (CH₂), 26.5 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.4 (CH₂ \times 2), 29.5 (CH₂), 29.7 (CH₂), 31.3 (CH₂CH₂N), 33.1 (CH₂ cHx \times 2), 48.5 (CH cHx), 50.6 (CH₂N), 70.5 (CH₂O), 72.8 (CH₂ Bn), 106.7 (CH Py), 125.5 (CH Py), 126.4 (C Bn), 127.4 (CH Bn), 127.6 (CH \times 2), 128.3 (CH \times 2), 134.9 (C Py), 138.7 (C Py), 159.4 (CONH). **E. M. (ES +) m/z:** 498.5 [M + H]⁺, 499.5 [M + 2]⁺, 520.5 [M + Na]⁺. **IR (entre cristales) (cm⁻¹):** 3326, 3126, 3027, 2928, 2854, 1640, 1524, 1452, 1424, 1366, 1323, 1101, 843, 812, 750, 697. **Análisis elemental** calculado

para $C_{29}H_{43}N_3O_4$: C: 69.99%, H: 8.71%, N: 8.44%. Hallado: C: 69.85%, H: 8.65%, N: 8.32%.

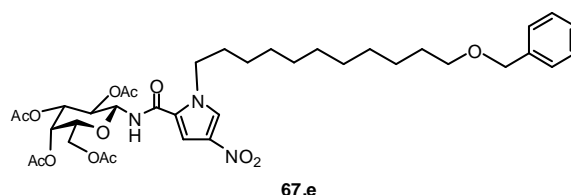
1.13.7. Preparación de $(AcO)_3\text{-}\beta\text{-Xyl-Py(B)}[(CH_2)_{11}OBn]\text{-NO}_2$ (**67.c**)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que $cHx\text{-Py(B)}\text{-NO}_2$ (**66.a**)²⁹ a partir de $HO\text{-Py(B)}[(CH_2)_{11}OBn]\text{-NO}_2$ (**64**) (78 mg, 0.187 mmol) y $(AcO)_3\text{-}\beta\text{-Xyl-NH}_2$ (**36**) (62 mg, 0.206 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (2:1). Cantidad de producto obtenido, $(AcO)_3\text{-}\beta\text{-Xyl-Py(B)}[(CH_2)_{11}OBn]\text{-NO}_2$ (**67.b/67.c**), con una relación (α/β)= 1/1.5: 83 mg (aceite). R = 63%. **Caracterización de $(AcO)_3\text{-}\beta\text{-Xyl-Py(B)}[(CH_2)_{11}OBn]\text{-NO}_2$ (**67.c**):** $[\alpha]^D = -0.23^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$); $^1H\text{-NMR}$ (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1.20-1.40 (m, $CH_2 \times 7$, 14H), 1.56-1.65 (m, CH_2CH_2O , 2H), 1.74-1.84 (m, CH_2CH_2N , 2H), 2.05 (s, CH_3 (AcO), 3H), 2.09 (CH_3 (AcO), 3H), 2.10 (CH_3 (AcO), 3H), 3.46 (t, $J = 6.7$ Hz, CH_2O , 2H), 3.43-3.50 (m, $CH\text{-}5'$ Xyl, 1H), 4.10 (dd, $J = 5.6$ Hz, $J = 11.5$ Hz, $CH\text{-}5$ Xyl, 1H), 4.2 (m, CH_2N , 2H), 4.50 (s, CH_2 Bn, 2H), 5.00-5.10 (m, $CH\text{-}4$ Xyl, 1H), 5.06 (t, $J = 9.5$ Hz, $CH\text{-}2$ Xyl, 1H), 5.23 (t, $J = 9.1$ Hz, $J = 9.5$, $CH\text{-}1$ Xyl, 1H), 5.36 (t, $J = 9.6$ Hz, $CH\text{-}3$ Xyl, 1H), 7.13 (d, $J = 9.0$ Hz, NH, 1H), 7.18 (d, $J = 1.8$ Hz, $CH\text{-}3$ Py, 1H), 7.26-7.36 (m, $CH \times 5$, 5H), 7.61 (d, $J = 1.8$ Hz, $CH\text{-}5$ Py, 1H). $^{13}C\text{-NMR}$ (100 MHz, $CDCl_3$): δ 20.6 (CH_3 (AcO)), 20.6 (CH_3 (AcO)), 20.7 (CH_3 (AcO)), 26.1 (CH_2), 26.5 (CH_2), 29.1 (CH_2), 29.4 ($CH_2 \times 3$), 29.5 (CH_2), 29.7 (CH_2CH_2O), 31.2 (CH_2CH_2N), 50.6 (CH_2N), 64.4 ($CH_2\text{-}5$ Xyl),

68.9 (C-4 Xyl), 70.5 (CH₂O), 71.0 (C-2 Xyl), 72.0 (C-3 Xyl), 72.8 (CH₂ Bn), 78.9 (C-1 Xyl), 108.7 (C-5 Py), 124.2 (C-3 Py), 126.6 (C Bn), 127.4 (CH Bn), 127.6 (CH Bn × 2), 128.3 (CH Bn × 2), 135.2 (C Py), 138.7 (C Py), 160.1 (CONH), 169.9 (CO), 170.0 (CO), 171.8 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 674.1 [M + 1]⁺, 675.1 [M + 2]⁺, 696.3 [M + Na]⁺, 697.3 [M + 1 + Na]⁺. El compuesto α no se consiguió aislar puro.

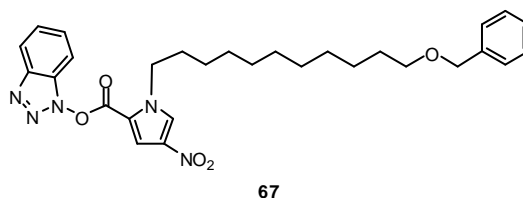
1.13.8. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.e)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NO₂ (66.a)**²⁹ a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)** (133 mg, 0.320 mmol) y **(AcO)₄-β-Gal-NH₂ (39)** (212 mg, 0.637mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (2:1). Cantidad de producto obtenido: 108 mg. R = 50%; [α]_D = -3.7 (c = 1.5°, CDCl₃); ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.2-1.4 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.59-1.62 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.70-1.90 (m, CH₂CH₂N, 2H), 2.03 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.04 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.07 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.17 (s, CH₃ (AcO), 3H), 3.46 (t, J = 8.0 Hz, CH₂O, 2H), 4.02-4.15 (m, CH-5 Gal, 1H), 4.15-4.18 (m, CH₂-6 Gal, 2H), 4.28-4.38 (m, CH₂N, 2H), 4.50 (s, CH₂ Bn), 5.16-5.20 (m, CH-3 y CH-4 Gal, 2H), 5.22-5.30 (m, CH-1 Gal, 1H), 5.46 (sa, CH-2 Gal, 1H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, NH, 1H), 7.12 (d, J = 2.0 Hz, CH Py, 1H), 7.26-7.36 (m, CH × 5, 5H), 7.62 (d, J = 1.6 Hz, CH Py, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 20.6 (CH₃ (AcO)), 20.6 (CH₃ (AcO)), 20.7 (CH₃ (AcO)), 20.8 (CH₃

(AcO)), 26.2 (CH₂), 26.5 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.4 (CH₂ × 2), 29.5 (CH₂), 29.8 (CH₂CH₂O), 31.2 (CH₂CH₂N), 50.6 (CH₂N), 61.0 (CH₂-6 Gal), 67.0 (CH-2 Gal), 68.4 (CH Gal), 70.5 (CH Gal), 70.6 (CH₂O), 72.3 (CH-5 Gal), 72.9 (CH₂ Bn), 78.8 (CH-1 Gal), 108.6 (CH Py), 124.3 (CH Py), 126.6 (C Bn), 127.5 (CH Bn), 127.6 (CH × 2), 128.3 (CH × 2), 135.2 (C Py), 138.7 (C Py), 159.9 (CONH), 169.8 (CO), 170.0 (CO), 170.3 (CO), 171.8 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 746.1 [M + 1]⁺, 747.1 [M + 2]⁺, 768.1 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3429, 2929, 2855, 1752, 1680, 1529, 1370, 1226, 1084, 1052.

1.13.9. Preparación de **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]NO₂ (67)**

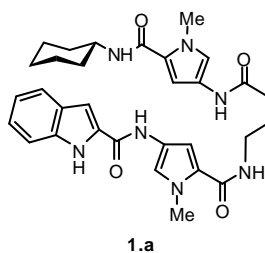


A una disolución de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (64)** (350 mg, 0.84 mmol) y HOBt (170 mg, 1.26 mmol) en DMF anhidra (5ml) bajo atmósfera de argon, se añade DIPC (198 µl, 1.26 mmol) y se agita durante 18 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución saturada de Cu₂SO₄ y se extrae con AcOEt. Se separan las fases, y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (5:1). Cantidad de producto obtenido: 350 mg. R = 76%. **¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.18-1.42 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.54-1.66 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.60-1.88 (m, CH₂CH₂N, 2H), 3.45 (t, *J* = 6.6 Hz, CH₂O, 2H), 4.33 (t, *J* = 7.2 Hz, CH₂N, 2H), 4.49 (s, CH₂ Bn, 2H), 7.3-7.4 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.43-7.51 (m, CH HOBt, 1H), 7.49 (d, *J* = 0.8 Hz, CH HOBt, 1H), 7.56-7.62 (m,

CH HOBt, 1H), 7.87 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.96 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 8.09 (m, CH HOBt, 1H). ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 26.1 (CH_2), 26.3 (CH_2), 28.9 (CH_2), 29.4 ($\text{CH}_2 \times 4$), 29.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 30.8 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 50.9 (CH_2N), 70.5 (CH_2O), 72.8 (CH_2 Bn), 108.1 (CH HOBt), 116.2 (CH Py), 120.7 (CH HOBt), 125.1 (CH HOBt), 126.7 (C), 127.5 (CH Bn), 127.6 ($\text{CH} \times 2$ Bn), 127.8 (C), 128.3 ($\text{CH} \times 2$ Bn), 128.7 (C), 129.1 (CH HOBt), 129.3 (CH Py), 138.6 (C Bn), 143.4 (C), 156.0 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 534.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 535.3 $[\text{M} + 2]^+$, 557.1 $[\text{M} + 1 + \text{Na}]^+$.

1.14. Preparación de los derivados acetilados de las **glico-oligoamidas Tipo I**, por la Ruta B.

1.14.1. Preparación de **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)** por la Ruta B

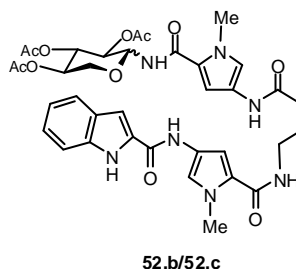


A una disolución de **HO- γ -Py(A)-Ind (16)** (220 mg, 0.597 mmol) y HOBt (80 mg, 0.597 mmol) en DMF anhidra bajo atmósfera de argón, se añade DIPC (92 μl , 0.597 mmol) y se agita durante 18 h. a t. a.

Paralelamente se realiza la reducción del grupo NO_2 de **cHx-Py(B)- NO_2 (66.a)** a NH_2 : una mezcla de **cHx-Py(B)- NO_2 (66.a)** (150 mg, 0.597 mmol) y Pd/C (5%) (150 mg) en AcOEt/metanol (3:3) se enfría durante 10 min a 0 °C. Se añade

lentamente una disolución acuosa (1 ml) de NaBH₄ (68 mg, 1.791 mmol). Se agita la reacción 30 min. a t. a. Transcurrido este tiempo, se filtra sobre tierra diatomeas para eliminar el Pd/C y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo se disuelve en DMF y se añade a la disolución del ácido activado. La mezcla de reacción se agita 24h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución saturada de CuSO₄ y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto, **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)**, obtenido: 239 mg (sólido blanco). R = 70%³⁰

1.14.2. Preparación de **(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.b/52.c)** por la Ruta B



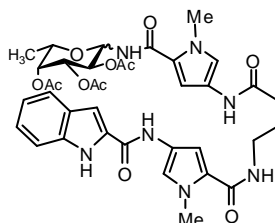
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)**³¹ a partir de una mezcla de **(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-NO₂ (66.b/66.c)** ($\alpha/\beta = 1/1.8$) (365 mg, 0.854 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Se obtiene el compuesto deseado como una mezcla de anómeros ($\alpha/\beta = 1/1.8$). Cantidad de compuesto, **(AcO)₃-α/β-Xyl-**

³⁰ Para ver los datos espectroscópicos de **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)** ver sección 1.9.5. Preparación de **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)**

³¹ Sección: 1.14.1. Preparación de **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)** por la Ruta B

Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c), obtenido: 269 mg. R = 48%. Una cantidad analítica de β se consiguió separar para su caracterización.³²

1.14.3. Preparación de **(AcO)₃- α/β -Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i)** por la Ruta B



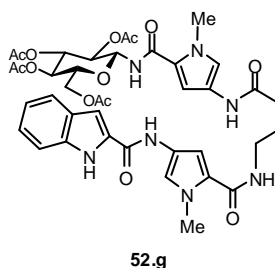
52.h/52.i

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (1.a)**³¹ a partir de una mezcla de **(AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i)** ($\alpha/\beta = 1/3$) (429 mg, 0.972 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Se obtiene el compuesto deseado como una mezcla de anómeros **(AcO)₃- α/β -Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.h/52.i)**. Cantidad de compuesto obtenido: 488 mg. R = 66%. Una cantidad analítica de β se consiguió separar para su caracterización.³³

³² Para ver los datos espectroscópicos de **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)** ver sección 1.9.1. Preparación de **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)**

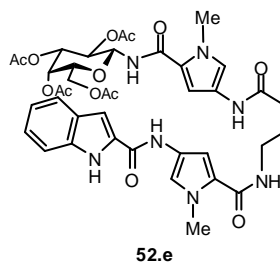
³³ Para ver los datos espectroscópicos de **(AcO)₃- β -Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.i)** ver sección 1.9.2. Preparación de **(AcO)₃- α/β -Fuc-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52h/52.i)**.

1.14.4. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.g) por la Ruta B



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)**³¹ a partir de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NO₂ (**66.g**) (500 mg, 1.00 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto, (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (**52.g**), obtenido: 453 mg (sólido blanco). R = 55%.³⁴

1.14.5. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.e) por la Ruta B



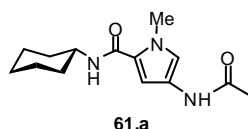
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.a)**³¹ a partir de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NO₂ (**66.e**) (200 mg, 0.400 mmol). El

³⁴ Para ver los datos espectroscópicos de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (**52.g**) de ver sección 1.9.3. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (**52.g**).

compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto, (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.e), obtenido: 156 mg (sólido blanco). R = 43%.³⁵

1.15. Formación de los compuestos 61.a, c, e, g, i y 62.a, c y e

1.15.1. Preparación de cHx-Py(B)-NHAc (61.a)

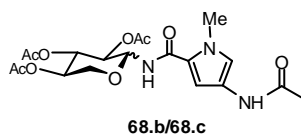


Una mezcla de cHx-Py(B)-NO₂ (66.a) (150 mg, 0.597 mmol) y Pd/C (5%) (150 mg) en AcOEt/metanol (3:3) se enfría durante 10 min. a 0 °C. Se añade lentamente una disolución acuosa (1 ml) de NaBH₄ (68 mg, 1.791 mmol). Se agita la reacción 30 min. a t. a. Transcurrido este tiempo, se filtra sobre tierra diatomeas para eliminar el Pd/C y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo se disuelve en CH₂Cl₂ (5 ml) y se trata con anhídrido acético (130 µl, 1.46 mmol) y Et₃N (203 µl, 1.46 mmol). La disolución se agita 24 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%) y se obtiene el compuesto deseado cHx-Py(B)-NHAc (61.a). Cantidad de compuesto obtenido: 293 mg (sólido blanco). R = 85%. P.f. = 208-210 °C; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1.08 (m, 1H), 1.26 (m, 4H), 1.59 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 1.64-1.78 (m, 4H), 1.94 (s, CH₃, 3H), 3.63-3.67 (m, H-1 cHx, 1H), 3.75 (s, CH₃, 3H), 6.67 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.05 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.1 Hz, NH, 1H), 9.73 (s, NH,

³⁵ Para ver los datos espectroscópicos de (AcO)₄-β-Gal-Py-γ-Py-Ind (52.e) de ver sección 1.9.3. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py-γ-Py-Ind (52.e).

1H). ^{13}C -RMN (100 MHz, DMSO- d_6): δ 23.0, 25.0, 25.2, 32.5, 35.8, 47.5, 103.4, 117.2, 121.8, 123.1, 160.3, 166.3. E. M. (ES +) m/z : 264 $[\text{M} + \text{H}]^+$; 286 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 527 $[2\text{M} + \text{H}]^+$, 549 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$. IR (KBr) (cm^{-1}): 3434, 1645, 1625, 1580, 1535, 1443. Análisis elemental calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$: C: 63.85%; H: 8.04%; N: 15.96%; Hallado: C: 63.76%; H: 8.12%; N: 15.92%.

1.15.2. Preparación de (AcO) $_3$ - α/β -Xyl-Py(B)-NHAc (68.b/68.c)

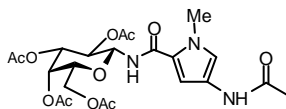


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)-NHAc (61.a)**³⁶ a partir de una mezcla de (AcO) $_3$ - α/β -Xyl-Py(B)-NO $_2$ (66.b/66.c) ($\alpha/\beta = 1/1.8$) (550 mg, 1.28 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%) y se obtiene el compuesto (AcO) $_3$ - α/β -Xyl-Py(B)-NHAc (66.b/66.c) ($\alpha/\beta = 1/1.8$). Cantidad de compuesto obtenido: 394 mg. R = 72%. Una muestra analítica de ambos anómeros se aisló para su caracterización. Caracterización de (AcO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)-NHAc (68.c): $[\alpha]_D = -52.5^\circ$ (c = 1, CH $_3$ Cl); ^1H -RMN (200 MHz, CDCl $_3$): δ 2.05 (s, CH $_3 \times 3$, 6H), 2.07 (s, CH $_3$, 3H), 2.11 (s, CH $_3$, 3H), 3.48 (dd, $J = 10.6$ Hz, $J = 11.4$ Hz, CH, 1H), 3.88 (s, CH $_3$, 3H), 4.09 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 11.5$ Hz, CH, 1H), 4.95 (dd, $J = 9.4$ Hz, $J = 9.6$ Hz, CH, 1H), 5.01-5.03 (m, CH, 1H), 5.18 (dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 9.2$ Hz, CH, 1H), 5.35 (dd, $J = 9.4$ Hz, $J = 9.6$ Hz, H-1, 1H), 6.32 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 6.73 (d, $J = 9.0$ Hz, NH-1, 1H), 7.16 (s, NH, 1H), 7.29 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H). ^{13}C -RMN (50 MHz, CDCl $_3$): δ 20.5 (CH $_3$), 20.6 (CH $_3$), 20.7 (CH $_3$), 23.4

³⁶ Sección: 1.14.1. Preparación de **cHx-Py-NHAc (61.a)**

(CH₃), 36.7 (CH₃), 64.3 (CH), 69.1 (CH), 70.9 (CH), 72.2 (CH), 79.0 (CH), 104.3 (CH), 120.9 (CH), 121.5 (C), 121.6 (C), 161.3 (NHCO), 167.6 (NHCO), 169.9 (CO (AcO)), 170.0 (CO (AcO)), 171.6 (CO (AcO)). **E. M. (ES +) m/z:** 440 [M + H]⁺, 462 [M + Na]⁺, 879 [2M + H]⁺, 901 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3380, 1467, 2940, 1754, 1666, 1577, 1517, 1439, 1370, 1242, 1223, 1057, 780, 602. **Análisis elemental** calculado para C₁₉H₂₅O₉N₃: C: 51.93%; H: 5.73%; N: 9.56% Hallado: C: 51.68%; H: 5.69%; N: 9.37%. **Caracterización de (AcO)₃-α-Xyl-Py(B)-NHAc (68.b):** [α]_D = - 4.09° (c = 1, CH₃Cl); **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃):** δ 2.11 (s, CH₃, 3H), 2.13 (s, CH₃, 3H), 2.14 (s, CH₃, 3H), 2.17 (s, CH₃, 3H), 3.88 (s, CH₃, 3H), 3.99-4.01 (m, 2 × CH, 2H), 4.75-7.77 (m, CH, 1H), 4.87 (dd, J = 2.7 Hz, J = 4.3 Hz, CH, 1H), 5.24 (t, J = 4.2 Hz, CH, 1H), 5.70 (dd, J = 2.7 Hz, J = 8.7 Hz, H-1, 1H), 6.52 (d, J = 2.2 Hz, CH, 1H), 6.65 (d, J = 8.8 Hz, NH-1, 1H), 7.14 (d, J = 1.8 Hz, CH, 1H), 7.20 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (200 MHz, CDCl₃):** δ 20.7 (CH₃), 20.8 (2 × CH₃), 23.4 (CH₃), 36.7 (CH₃), 63.8 (CH₂), 66.7 (CH), 67.5 (CH), 68.6 (CH), 74.5 (CH), 104.6 (C), 120.3 (C), 121.5 (C), 121.8 (C), 161.1 (NHCO), 167.7 (NHCO), 169.1 (CO (AcO)), 169.6 (CO (AcO)), 169.8 (CO (AcO)). **E. M. (ES +) m/z:** 440 [M + H]⁺, 462 [M + Na]⁺, 879 [2M + H]⁺. **Análisis elemental** calculado para C₁₉H₂₅O₉N₃: C: 51.93%; H: 5.73%; N: 9.56% Hallado: C: 51.58%; H: 6.02%; N: 9.18%.

1.15.3. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (68.e)

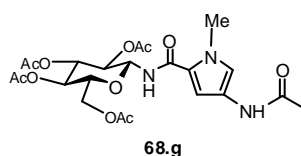


68.e

La reducción del nitro a amina se realiza usando el mismo método que para la reducción del grupo nitro del compuesto **66.a**³⁶ a partir de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-

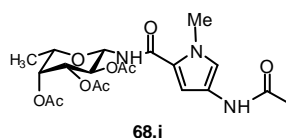
NO₂ (66.e) (400 mg, 0.801 mmol). Una vez obtenida la amina se disuelve en CH₂Cl₂ (5 ml) y se trata con cloruro de acetilo (57 µl, 0.80 mmol) y Et₃N (112 µl, 0.80 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml). La reacción se agita 18 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%). Cantidad de compuesto obtenido: 83 mg (sólido blanco). R = 45%. **P.f.** = 123-125 °C, **[α]^D** = -7.05° (c = 0.87, acetona); **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃)**: δ 2.01 (s, CH₃, 3H), 2.02 (s, CH₃, 3H), 2.03 (s, CH₃, 3H), 2.11 (s, CH₃, 3H), 2.16 (s, CH₃, 3H), 3.86 (s, CH₃, 3H), 4.08-4.12 (m, 3H), 5.18-5.31 (m, 3H), 5.48 (sa, CH, 1H), 6.40 (d, J = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 6.87 (d, J = 8.6 Hz, NH, 1H), 7.29 (d, J = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 7.68 (sa, NH, 1H). **¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃)**: δ 20.5 (CH₃), 20.6 (CH₃), 20.7 (CH₃), 20.9 (CH₃), 23.6 (CH₃), 36.8 (CH₃), 61.0 (CH₂), 67.2 (CH), 68.4 (CH), 70.8 (CH), 72.1 (CH), 78.8 (CH), 103.9 (CH Py), 120.8 (CH Py), 121.4 (C), 121.5 (C), 160.8 (HNCO), 167.4 (HNCO), 169.8 (CO (AcO)), 170.1 (CO (AcO)), 170.4 (CO (AcO)), 171.9 (CO (AcO)). **E. M. (ES +) m/z**: 513 [M + H]⁺, 1024 [2M + H]⁺, 1047 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 1750, 1667, 1252. **Análisis elemental** calculado para **C₂₂H₂₉O₁₁N₃·H₂O**: C: 49.90%; H: 5.90%; N: 7.93% Hallado: C: 50.20%; H: 5.60%; N: 7.64%.

1.15.4. Preparación de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NHAc (68.g)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (68.e)³⁷ a partir de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NO₂ (66.g) (500 mg, 1.00 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna (hexano/AcOEt (1:1)). Posteriormente se disuelve el compuesto en CHCl₃ y se precipita con hexano. Cantidad de compuesto obtenido: 190 mg (sólido blanco). R = 37%. P.f. = 120-123 °C, [α]^D = -16.6° (c = 1.34, DMSO-d₆); ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.88 (s, CH₃, 3H), 1.93 (s, CH₃, 3H), 1.94 (s, CH₃, 3H), 1.98 (s, CH₃ × 2, 6H), 3.77 (s, CH₃, 3H), 3.98 (dd, J = 1.8 Hz, J = 12.2 Hz, CH, 1H), 4.07-4.18 (m, 2H), 4.92 (t, J = 9.3 Hz, CH, 1H), 5.07 (t, J = 9.0 Hz, CH, 1H), 5.35 (t, J = 9.6 Hz, CH, 1H), 5.50 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.17 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 8.64 (d, J = 9.5 Hz, NH, 1H), 9.79 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 20.2 (CH₃), 20.2 (CH₃), 20.2 (CH₃), 20.4 (CH₃), 22.8 (CH₃), 35.9 (CH₃), 61.7 (CH₂), 67.9 (CH), 70.6 (CH), 72.0 (CH), 73.1 (CH), 77.1 (CH), 104.8 (CH Py), 118.9 (CH Py), 121.4 (C), 122.1 (C), 160.8 (NHCO), 166.4 (NHCO), 168.8 (CO (AcO)), 169.1 (CO (AcO)), 169.3 (CO (AcO)), 169.8 (CO (AcO)). E. M. (ES +) m/z: 512 [M + H]⁺, 534 [M + Na]⁺, 542 [M + K]⁺, 1023 [2M + H]⁺, 1045 [2M + Na]⁺. IR (KBr) (cm⁻¹): 1751, 1655, 1233. Análisis elemental calculado para C₂₂H₂₉O₁₁N₃: C: 51.66%; H: 5.71%; N: 8.22% Hallado: C: 51.38%; H: 5.63%; N: 8.04%.

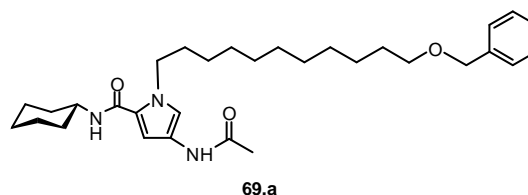
1.15.5. Preparación de (AcO)₃-α/β-L-Fuc-Py(B)-NHAc (68.h/68.i)



³⁷ Sección: 1.14.3. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (68.e)

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el descrito para el compuesto **cHx-Py(B)-NHAc (61.a)**³⁶ a partir de **(AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)-NO₂ (66.h/66.i)** ($\alpha/\beta = 1/3$) (429 mg, 0.972 mmol) para obtener el compuesto deseado como una mezcla de anómeros **(AcO)₃- α/β -L-Fuc-Py(B)-NHAc (68.h/68.i)** ($\alpha/\beta = 1/3$). Cantidad de compuesto obtenido: 342 mg. R = 80%. Una cantidad analítica de **(AcO)₃- β -L-Fuc-Py(B)-NHAc (68.i)** se aisló para su caracterización. **¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃):** δ 1.21 (d, $J = 6.4$ Hz, CH₃, 3H), 2.01 (s, CH₃, 3H), 2.04 (s, CH₃, 3H), 2.12 (s, CH₃, 3H), 2.19 (s, CH₃, 3H), 3.89 (s, CH₃, 3H), 3.98 (m, CH, 1H), 5.10-5.34 (m, CH \times 4, 4H), 6.31 (d, $J = 1.8$ Hz, CH, 1H), 6.69 (d, $J = 7.8$ Hz, NH, 1H), 7.05 (s, NH, 1H), 7.30 (d, $J = 1.8$ Hz, CH, 1H). **¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃):** δ 16.1 (CH₃), 20.5 (CH₃), 20.6 (CH₃), 20.8 (CH₃), 23.5 (CH₃), 36.7 (CH₃), 68.6 (CH), 70.5 (CH), 70.7 (CH), 71.2 (CH), 78.7 (CH), 103.9 (C), 120.7 (C), 121.5 (C), 121.6 (C), 161.0 (CO), 167.3 (CO), 169.8 (CO), 170.4 (CO), 171.9 (CO). **E. M. (ES⁺): m/z:** 454 [M + H]⁺, 476 [M + Na]⁺, 929 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3400, 2939, 1749, 1666, 1580, 1520, 1440, 1370, 1227, 1077, 911, 601.

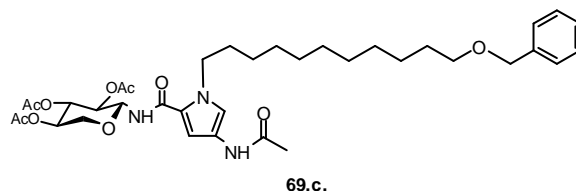
1.15.6. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.a)**



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el descrito para el compuesto **cHx-Py(B)-NHAc (61.a)**³⁶ a partir de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.a)** (115 mg, 0.231 mmol). El crudo se purifica por cromatografía en columna

en hexano/AcOEt (1:9). Cantidad de compuesto obtenido: 105 mg (aceite). R = 89%. **¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.08-1.48 (m, CH₂ × 7 + CH₂ × 2 cHx, 18H), 1.54-1.67 (m, CH₂CH₂O + CH₂ cHx, 4H), 1.67-1.81 (m, CH₂CH₂N + CH₂ cHx, 4H), 2.09-2.13 (m, CH₂ cHx, 2H), 2.10 (s, CH₃, 3H), 3.46 (t, *J* = 6.66 Hz, CH₂O, 2H), 3.76-3.94 (m, CH cHx, 1H), 4.50 (s, CH₂ Bn, 2H), 4.20-4.28 (m, CH₂N, 2H), 5.71 (d, *J* = 8.11 Hz, NH, 1H), 6.47 (d, *J* = 1.86 Hz, CH Py, 1H), 6.99 (d, *J* = 1.84 Hz, CH Py, 1H), 7.13-7.20 (sa, NH, 1H), 7.22-7.45 (m, CH × 5 Bn, 5H). **¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ 23.9 (CH₃CONH), 26.1 (CH₂ × 2), 26.7 (CH₂), 28.5 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.4 (CH₂ × 3), 29.5 (CH₂ × 2), 29.5 (CH₂ × 2), 29.7 (CH₂), 31.7 (CH₂CH₂N), 48.0 (C-1 cHx), 48.8, (CH₂N), 70.5 (CH₂O), 72.8 (CH₂ Bn), 104.6 (CH Py), 118.8 (CH Py), 121.2 (C Py), 123.3 (C Py), 127.4 (CH Bn), 127.6 (CH × 2 Bn), 128.6 (CH × 2), 161.0 (CO), 168.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 510.3 [M + H]⁺. **IR (entre cristales) (cm⁻¹):** 3287, 3027, 2929, 2854, 1709, 1528, 1443, 1410, 1371, 1230, 1104, 891, 825, 782, 735, 697. **Análisis elemental** calculado para C₃₁H₄₇N₃O₃: C: 73.05%, H: 9.29%, N: 8.24%. Hallado: C: 73.15%, H: 9.34%, N: 8.32%.

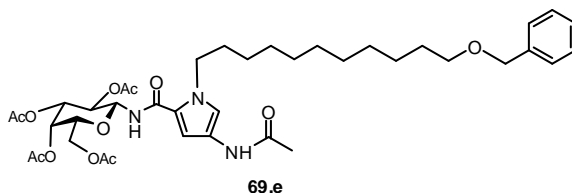
1.15.7. Preparación de (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.c)



Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el descrito para el compuesto cHx-Py(B)-NHAc (61.a)³⁶ a partir de una mezcla 1/1.5 de (AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B) [(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.b/67.c) (180 mg, 0.26 mmol). El

compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1/9), se obtiene el compuesto deseado como una mezcla de isómeros. ($\alpha/\beta = 1/1.5$). Cantidad de compuesto obtenido: 125 mg. R = 70%. Una cantidad analítica del isómero β , (AcO)₃- β -Xyl-Py(B) [(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.c), se consiguió aislar para su caracterización. **Caracterización de (AcO)₃- β -Xyl-Py(B) [(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (69.c):** $[\alpha]_D = -17.53^\circ$ (c = 1.1, CDCl₃); **¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.17-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.52-1.65 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.66-1.85 (m, CH₂CH₂N, 2H), 2.03 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.04 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.09 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.11 (s, CH₃CONH, 3H), 3.46 (t, J = 6.7 Hz, CH₂O, 2H), 3.45-3.50 (m, CH-5' Xyl, 1H), 4.08 (dd, J = 5.7 Hz, J = 11.5 Hz, CH-5 Xyl, 1H), 4.23 (t, J = 7.4 Hz, CH₂N, 2H), 4.50 (s, CH₂Bn, 2H), 4.94-5.06 (m, CH-2 y CH-4 Xyl, 2H), 5.19 (t, J = 9.2 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 5.33 (t, J = 9.6 Hz, CH-3 Xyl, 1H), 6.35 (sa, CH Py, 1H), 6.83 (d, J = 8.9 Hz, NH-1, 1H), 7.13-7.20 (sa, NH, 1H), 7.24-7.37 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.43 (sa, CH Py, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ 20.6 (CH₃ (AcO)), 20.7 (CH₃ (AcO)), 20.8 (CH₃ (AcO)), 23.5 (CH₃CONHAc), 26.1 (CH₂), 26.7 (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.5 (CH₂), 29.5 (CH₂), 29.7 (CH₂), 31.6 (CH₂CH₂N), 49.2 (CH₂N), 64.3 (CH₂-5 Xyl), 69.1 (CH Xyl), 70.5 (CH₂O), 70.9 (CH Xyl), 72.1 (CH-3 Xyl), 72.8 (CH₂Bn), 79.0 (CH-1 Xyl), 104.1 (CH Py), 119.7 (CH Py), 120.9 (C Py), 121.6 (C Py), 127.4 (CH × 2 Bn), 127.6 (CH × 2 Bn), 128.3 (CH Bn), 138.6 (C Bn), 160.9 (CO), 167.4 (CO), 169.8 (CO), 170.0 (CO), 171.7 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 686.3 [M + H]⁺, 687.3 [M + 2]⁺. **IR (entre cristales) (cm⁻¹):** 3320, 2928, 2855, 1754, 1671, 1580, 1523, 1453, 1402, 1369, 1226, 1065, 1036, 984, 936, 904, 804, 753, 698. **Análisis elemental** calculado para C₃₆H₅₁N₃O₁₀: %C: 63.05, %H: 7.50, %N: 6.13.

1.15.8. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.e)

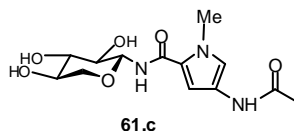


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (68.e)³⁸ a partir de (AcO)₄-β-Gal-Py(B) [(CH₂)₁₁OBn]-NO₂ (67.e) (150 mg, 0.2 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:9). Cantidad de producto obtenido: 82 mg (aceite). R = 60%. [α]_D = 3.2° (c = 0.5, CDCl₃); ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.18-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.55-1.65 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.68-1.80 (m, CH₂CH₂N, 2H), 2.01 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.03 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.04 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.11 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.16 (s, CH₃CONH, 3H), 3.46 (t, J = 6.7 Hz, CH₂O, 2H), 4.04-4.19 (m, CH₂-6 Gal + CH-5 Gal, 3H), 4.19-4.28 (m, CH₂N, 2H), 4.49 (s, CH₂ Bn, 2H), 5.16-5.19 (m, CH × 2 Gal, 2H), 5.24-5.31 (m, CH-1 Gal, 1H), 5.45-4.49 (m, CH Gal, 1H), 6.33 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.68 (d, J = 9.0 Hz, NH-1, 1H), 7.13 (sa, NH, 1H), 7.32-7.36 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.35 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 20.6 (CH₃ (AcO)), 20.6 (CH₃ (AcO)), 20.6 (CH₃ (AcO)), 23.6 (CH₃CONH), 26.1, (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.5 (CH₂ × 2), 29.5 (CH₂ × 2), 29.7 (CH₂), 31.6 (CH₂CH₂N), 49.3, (CH₂N), 61.0 (CH₂-6 Gal), 67.2 (CH-3 Gal), 68.4 (CH Gal), 70.5 (CH₂O), 70.8 (CH Gal), 72.1 (CH-5 Gal), 72.8 (CH₂ Bn), 78.8 (CH-1 Gal), 103.9 (CH Py), 119.7 (CH Py), 120.8 (C Py), 121.6 (C Py), 127.4 (CH Bn), 127.6 (CH × 2 Bn), 128.3 (CH × 2

³⁸ Sección: 1.14.3. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (68.e)

Bn), 138.7 (C Bn), 160.6 (CO), 167.2 (CO), 169.8 (CO), 170.0 (CO), 170.3 (CO), 171.8 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 758.3 [M + H]⁺, 759.3 [M + 2]⁺.

1.15.9. Preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-NHAc (61.c)

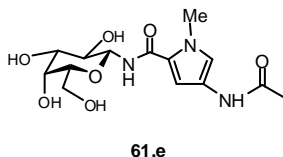


Compuesto sintetizado por el procedimiento descrito para la preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)³⁹ a partir de (AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-NHAc (68.b/68.c) (96 mg, 0.218 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt/metanol (7:3) para obtener (HO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-NHAc (61.b/61.c) como una mezcla de isómeros. Cantidad de compuesto obtenido: 50 mg. R = 74%. Una cantidad analítica de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-NHAc (661.c) se aisló como un sólido blanco para su caracterización: [α]^D = +10.77° (c = 0.8, DMSO); ¹H-RMN (200 MHz, DMSO-d₆): δ 1.95 (s, CH₃, 3H), 3.00-4.00 (m, CH × 5, 5H), 3.78 (s, CH₃, 3H), 4.77 (dd, J = 8.6 Hz, J = 9.2 Hz, CH-1, 1H), 4.89 (d, J = 4.8 Hz, OH, 1H), 4.96 (d, J = 3.8 Hz, OH, 1H), 5.06 (d, J = 2.6 Hz, OH, 1H), 6.81 (s, CH Py, 1H), 7.14 (s, CH Py, 1H), 8.35 (d, J = 8.6 Hz, NH-1, 1H), 9.80 (s, NH-2, 1H). ¹³C-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 23.0 (CH₃), 36.2 (CH₃), 67.4 (CH₂), 69.7 (CH), 71.6 (CH), 77.7 (CH), 80.5 (CH), 104.4 (CH), 118.4 (CH), 122.0 (C), 122.2 (C), 161.3 (NHCO), 166.5 (NHCO). **E. M. (ES +) m/z:** 314 [M + H]⁺, 336 [M + Na]⁺, 649 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3391, 2924, 1650, 1583, 1527, 1466, 1440, 1404, 1279, 1208, 1168, 1051, 780, 592.

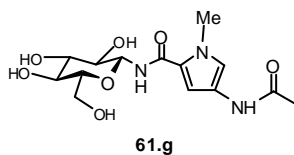
³⁹ Sección: 1.10.2.1. Preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)

Análisis elemental calculado para $C_{13}H_{19}O_6N_3$: C: 49.84%; H: 6.11%; N: 13.41%
Hallado: C: 49.57%; H: 6.57%; N: 13.21%.

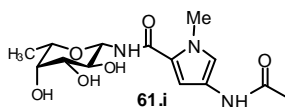
1.15.10. Preparación de (HO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (61.e)



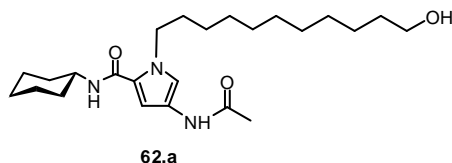
Compuesto sintetizado por el procedimiento descrito para la preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.e)³⁹ a partir de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (68.e) (80.0 mg, 0.156 mmol). El crudo de reacción en etanol se precipita con éter para obtener el compuesto (HO)₄-β-Gal-Py(B)-NHAc (61.e) como un sólido blanco. Cantidad de producto obtenido: 44 mg. R = 82%. **P.f.** = 148-149 °C; **[α]_D** = -2.6° (*c* = 1, H₂O); **¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆)**: δ 1.95 (s, CH₃, 3H), 3.30-3.44 (m, 3H), 3.49 (m, 1H), 3.59 (dd, *J* = 9.2 Hz, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.70 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 3.78 (s, CH₃, 3H), 4.83 (t, *J* = 8.9 Hz, H-1, 1H), 6.84 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.16 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 8.36 (d, *J* = 9.2 Hz, NH-1, 1H), 9.80 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-d₆)**: δ 23.0, 36.3, 54.9, 60.5, 68.3, 69.1, 74.4, 76.7, 80.1, 104.4, 118.4, 122.0, 161.3, 166.5. **E. M. (ES +) m/z**: 344 [M + H]⁺, 366 [M + Na]⁺, 709 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 3355, 3280, 3148, 2928, 2851, 1689, 1526, 1435, 1260, 1042. **Análisis elemental** calculado para $C_{14}H_{21}O_7N_3$: C: 48.98%; H: 6.17%; N: 12.24%. Hallado: C: 49.02%; H: 6.25%; N: 12.20%.

1.15.11. Preparación de (HO)₄-β-Glc-Py(B)-NHAc (61.g)

Compuesto sintetizado por el procedimiento descrito para la preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)³⁹ a partir de (AcO)₄-β-Glc-Py(B)-NHAc (68.g) (110 mg, 0.215 mmol). El crudo de reacción se disuelve en etanol y se precipita con éter para obtener el compuesto (HO)₄-β-Glc-Py(B)-NHAc (61.g). Cantidad de producto obtenido: 50 mg (sólido blanco). R = 74%. P.f. = 161-163 °C; [α]_D = +18.60° (c = 1.37, DMSO); ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.96 (s, CH₃, 3H), 3.04-3.15 (m, CH₂, 2H), 3.21 (dd, J = 8.1 Hz, J = 8.8 Hz, CH, 1H), 3.31 (dd, J = 8.8 Hz, J = 9.0 Hz, CH, 1H), 3.40-3.67 (m, CH × 2, 2H), 3.79 (s, CH₃, 3H), 4.88 (dd, J = 8.8 Hz, J = 9.0 Hz, CH, 1H), 6.83 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.14 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 8.33 (d, J = 8.9 Hz, NH, 1H), 9.77 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 22.9, 36.0, 61.0, 70.1, 71.8, 77.6, 78.4, 79.6, 104.5, 118.3, 121.9, 122.2, 161.1, 166.4. E. M. (ES +) m/z: 344 [M + H]⁺, 366 [M + Na]⁺, 374 [M + K]⁺, 709 [2M + H]⁺, 739 [2M + K]⁺. IR (KBr) (cm⁻¹): (3600-3200), 1644. Análisis elemental calculado para C₁₄H₂₁O₇N₃: C: 48.98%; H: 6.17%; N: 12.24%. Hallado: C: 49.08%; H: 6.20%; N: 12.30%.

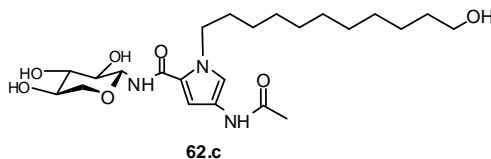
1.15.12. Preparación de (HO)₃-β-L-Fuc-Py(B)-NHAc (61.h/61.i)

Compuesto sintetizado por el procedimiento descrito para la preparación de **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)**³⁹ a partir de **(AcO)₃-α/β-L-Fuc-Py(B)-NHAc (68.h/68.i)** ($\alpha/\beta = 1:3$) (140 mg, 0.309 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt/MeOH (8:2). Cantidad de producto obtenido como una mezcla de isómeros **(HO)₃-α/β-L-Fuc-Py(B)-NHAc (61.h/61.i)** ($\alpha/\beta = 1:3$): 73 mg, R = 73%. Una cantidad analítica de **(HO)₃-β-L-Fuc-Py(B)-NHAc (61.i)** se aisló como un sólido blanco para su caracterización; $[\alpha]_D = -7.66^\circ$ ($c = 0.08$, DMSO) **¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆)**: δ 1.09 (d, $J = 6.3$ Hz, CH₃, 3H), 1.94 (s, CH₃, 3H), 3.22-3.60 (m, CH \times 4, 4H), 3.77 (s, CH₃, 3H), 4.36 (d, $J = 4.2$ Hz, OH, 1H), 4.58 (d, $J = 5.4$ Hz, OH, 1H), 4.67 (d, $J = 5.1$ Hz, OH, 1H), 4.79 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 9.0$ Hz, CH, 1H), 6.81 (d, $J = 1.8$ Hz, CH, 1H), 7.13 (d, $J = 1.8$ Hz, CH, 1H), 8.28 (d, $J = 9.0$ Hz, NH, 1H), 9.75 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (75 MHz, DMSO-d₆)**: δ 16.7 (CH₃), 16.8 (CH₃), 23.1 (CH₃), 36.1 (CH₃), 36.3 (CH₃), 66.7 (CH), 68.8 (CH), 69.3 (CH), 71.3 (CH), 71.5 (2 \times CH), 74.5 (2 \times CH), 76.4 (CH), 80.0 (CH), 104.4 (CH), 105.0 (CH), 118.3 (CH), 118.4 (CH), 122.0 (2 \times C), 122.3 (C), 122.5 (C), 161.3 (2 \times CO), 166.5 (2 \times CO). **E. M. (ES +) m/z**: 328 [M + H]⁺, 350 [M + Na]⁺, 677 [2M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹)**: 3400, 2982, 2933, 1650, 1583, 1528, 1440, 1403, 1276, 1209, 1159, 1073, 1031, 996, 602. **Análisis elemental** calculado para **C₁₄H₂₁O₆N₃**: C: 51.37%; H: 6.47%; N: 12.84%. Hallado: C: 51.60%; H: 6.61%; N: 12.75%.

1.15.13. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.a)**

Una mezcla de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.a)** (95 mg, 0.18 mmol) y Pd/C (5%) (100 mg) en MeOH (5 ml) bajo atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica, se agita 7 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se filtra sobre tierra diatomeas para eliminar el Pd y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:10). Se obtiene el producto deseado **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.a)**. Cantidad de compuesto obtenido: 53 mg (sólido blanco). R = 60%. P.f. = (140-142) °C. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.07-1.42 (m, CH₂ × 9, 18H), 1.49-1.65 (m, CH₂CH₂O + CH₂ cHx, 4H), 1.64-1.76 (m, CH₂CH₂N + CH₂ cHx, 4H), 1.88-1.99 (m, CH₂ cHx, 2H), 2.07 (s, CH₃, 3H), 3.62 (t, J = 6.6 Hz, CH₂O, 2H), 3.80-3.82 (m, CH-1 cHx, 1H), 4.17-4.24 (m, CH₂N, 2H), 5.79 (d, J = 8.3 Hz, NH), 6.49 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.00 (d, J = 1.9 Hz, CH Py), 7.77 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 23.5 (CH₃), 24.9 (CH₂), 25.5 (CH₂), 25.6 (CH₂), 26.5 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.3 (CH₂ × 3), 29.4 (CH₂), 31.7 (CH₂), 32.7 (CH₂), 33.3 (CH₂), 48.0 (CH cHx), 48.8, (CH₂N), 62.9 (CH₂O), 103.1 (CH Py), 117.1 (CH Py), 121.4 (C Py), 123.3 (C Py), 160.8 (CO), 167.6 (CO). E. M. (ES+) m/z: 420.5 [M + H]⁺, 421.5 [M + 2]⁺, 442.5 [M + Na]⁺, 443.5 [M + Na + 1]⁺, 861.8 [2M + Na]⁺. IR (entre cristales) (cm⁻¹): 3293, 2926, 2853, 1629, 1579, 1526, 1450, 1255, 1030. Análisis elemental calculado para C₂₄H₄₁N₃O₃: C: 68.70%, H: 9.85%, N: 10.01%. Hallado: C: 68.57%, H: 9.95%, N: 10.30%.

1.15.14. Preparación de **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.c)**

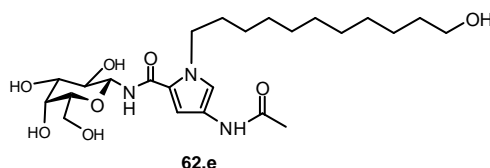


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.a)**⁴⁰ a partir de **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.c)** (100 mg, 0.145 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de CH₂Cl₂(A)/MeOH (B): de A/B 10:1 a A/B 5:1). Cantidad de compuesto **(HO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.c)** obtenido: 40 mg. R = 60%. $[\alpha]_D^{25} = 4.95^\circ$ (c = 1, DMSO); ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1.13-1.30 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.33-1.43 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.54-1.64 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.95 (s, CH₃CONH, 3H), 3.05 (t, J = 10.8 Hz, CH-5' Xyl, 1H), 3.15 (dd, J = 4.4 Hz, J = 8.7 Hz, CH Xyl, 1H), 3.22-3.30 (CH Xyl, 1H), 3.30-3.37 (CH₂O y CH Xyl, 3H), 3.66 (dd, J = 5.2 Hz, J = 11.1 Hz, CH-5 Xyl, 1H), 4.20 (t, J = 7.1 Hz, CH₂N, 2H), 4.33 (t, J = 5.2 Hz, OH, 1H), 4.47 (t, J = 8.9 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 4.87 (d, J = 5.6 Hz, OH), 4.98 (d, J = 5.0 Hz, OH, 1H), 5.05 (d, J = 4.5 Hz, OH, 1H), 6.81 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.18 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 8.33 (d, J = 8.8 Hz, NH, 1H), 8.83 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-d₆): δ 23.0 (CH₃CONHAc), 25.5 (CH₂), 26.1 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.9 (CH₂), 29.0 (CH₂), 29.0 (CH₂), 29.1 (CH₂), 31.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 47.9 (CH₂N), 60.7 (CH₂O), 67.3 (CH₂-5 Xyl), 69.7 (CH Xyl), 71.6 (CH Xyl), 77.7 (CH Xyl), 80.5 (CH-1 Xyl), 104.7 (CH Py), 117.5 (CH

⁴⁰ Sección: 1.14.13. Preparación de **cHx-Py(A)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.a)**

Py), 121.5 (C Py), 122.0 (C Py), 161.2 (CO), 166.4 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 470.5 [M + 1]⁺, 471.5 [M + 2]⁺, 492.5 [M + Na]⁺. **IR (entre cristales) (cm⁻¹):** 3429, 2254, 2128, 1659, 1051, 1026, 1006, 825, 763. **Análisis elemental** calculado para **C₂₃H₃₉N₃O₇**: C: 58.83%, H: 8.95%, N: 8.95%. Hallado: C: 58.89%, H: 8.93%, N: 8.88%.

1.15.15. Preparación de **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.e)**

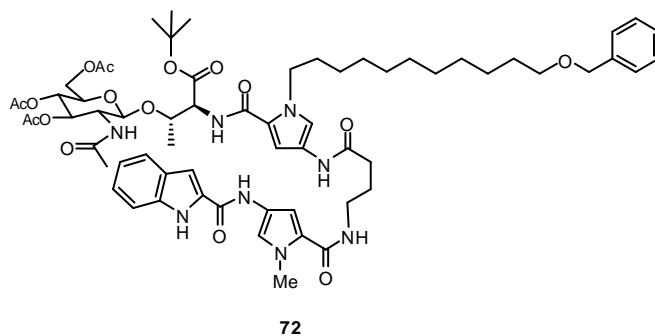


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.a)**⁴⁰ a partir de **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-NHAc (69.e)** (50 mg, 0.067 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de CH₂Cl₂(A)/MeOH(B): de A/B 10:1 a A/B 5:1. Cantidad de compuesto **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-NHAc (62.e)** obtenido: 15 mg. R = 45%. **[α]_D** = 19.63° (c = 1, DMSO); **¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆):** δ 1.15-1.32 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.33-1.43 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.55-1.66 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.95 (s, CH₃CONH, 3H), 3.32-3.41 (m, CH₂-6 Gal + CH₂O, 4H), 3.41-3.46 (m, CH Gal, 1H), 3.46-3.54 (m, CH Gal, 1H), 3.55-3.64 (m, CH-2 Gal, 1H), 3.68-3.73 (m, CH Gal, 1H), 4.14-4.29 (m, CH, CH₂N, 2H), 4.32 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.38 (d, J = 3.9 Hz, OH, 1H), 4.58 (t, J = 5.6 Hz, OH, 1H), 4.63 (d, J = 5.6 Hz, OH, 1H), 4.75 (d, J = 5.3 Hz, OH, 1H), 4.83 (dd, J = 6.3 Hz, J = 11.6 Hz, CH-1 Gal, 1H), 6.83 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.19 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 8.33 (d, J = 8.9 Hz, NH-1, 1H), 9.79 (s, NH-2, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-d₆):**

δ 22.9 (CH_3CONHAc), 25.4 (CH_2), 26.1 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.9 (CH_2), 28.9 (CH_2), 29.0 (CH_2), 29.0 (CH_2), 31.4 (CH_2), 32.5 (CH_2), 47.9 (CH_2N), 60.4 (CH_2O), 60.6 (CH_2 -6 Gal), 68.2 (CH Gal), 69.0 (CH Gal), 74.3 (CH Gal), 76.6 (CH Gal), 80.1 (CH-1 Gal), 104.5 (CH Py), 117.4 (CH Py), 121.5 (C Py), 121.9 (C Py), 161.0 (CO), 166.4 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 500.5 $[\text{M} + 1]^+$, 501.5 $[\text{M} + 2]^+$, 522.5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (entre cristales) (cm^{-1}):** 3430, 2253, 1655, 1052, 1027, 1007, 824, 762. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_8$: C: 57.70%, H: 8.27%, N: 8.41%. Hallado: C: 57.80%, H: 8.30%, N: 8.48%.

1.16. Preparación de miméticos de glico-peptidos a partir de oligoamidas

1.16.1. Preparación de $(\text{AcO})_3$ - β -O-GlcNHAc-Thr-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{OBn}$]- γ -Py(A)-Ind (72)



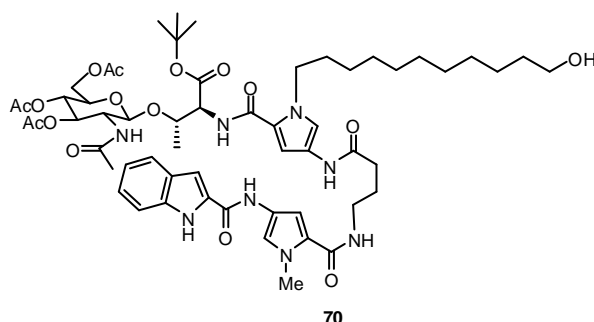
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto $(\text{AcO})_3$ - β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)⁴¹ a partir de HOBt-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{OBn}$]- γ -Py(A)-Ind (48) (104 mg, 1.22 mmol) y $(\text{AcO})_3$ - β -O-GlcNAc-Thr-NH₂ (71) (100 mg, 1.83 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en AcOEt (100%). Cantidad de producto obtenido: 74 mg. R=55%. $[\alpha]_{\text{D}} = -4.65^\circ$ (c = 0.5, acetona);

⁴¹ Sección: 1.9.1. Preparación de $(\text{AcO})_3$ - α / β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)

¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.18-1.40 (m, CH₂ × 7 + CH₃ Thr, 17H), 1.48 (s, CH₃ × 3 ^tBu, 9H), 1.52-1.64 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.64-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.87 (s, CH₃CONH, 3H), 1.93 (t, *J* = 6.9 Hz, CH₂γ, 2H), 1.95 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.98 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.99 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.43 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂γ, 2H), 3.39 (c, *J* = 6.3 Hz, *J* = 6.4 Hz, CH₂γ, 2H), 3.46 (t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O, 2H), 3.86 (ddd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 4.8 Hz, *J* = 9.8 Hz, CH-5 GlcNAc, 1H), 3.89-3.94 (m, CH-2 GlcNAc, 1H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.11 (dd, *J* = 2.3 Hz, *J* = 12.3 Hz, CH-6' GlcNAc, 1H), 4.25 (dd, *J* = 4.8 Hz, *J* = 12.3 Hz, CH-6 GlcNAc, 1H), 4.25-4.39 (m, CH₂N, 2H), 4.47 (s, CH₂ Bn, 2H), 4.48-4.54 (m, CHα + CHβ Thr, 2H), 4.86 (d, *J* = 8.4 Hz, CH-1 GlcNAc, 1H), 4.99 (t, *J* = 9.7 Hz, CH-4 GlcNAc, 1H), 5.28 (t, *J* = 10.7 Hz, CH-3 GlcNAc, 1H), 6.64 (d, *J* = 8.8 Hz, NH, 1H), 6.85 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.93 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 0.8 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 7.9 Hz, CH Ind, 1H), 7.21-7.26 (m, CH Ind + CH Ind, 2H), 7.32 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.30-7.36 (m, CH × 5 Bn, 5H), 7.47 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.3 Hz, CH Ind, 1H), 7.59 (t, *J* = 5.4 Hz, NH-3, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 9.49 (s, NH-4, 1H), 9.74 (s, NH-2, 1H), 10.88 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆):** δ 17.7 (CH₃ Thr), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 24.1 (CH₃CONH), 27.4 (CH₂γ), 28.0 (CH₂ × 2), 28.3 (CH₂), 29.1, (CH₃ × 3 ^tBu), 31.1 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.5 (CH₂), 33.7 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃), 40.5 (CH₂γ), 50.2 (CH₂N), 56.1 (CH-2 GlcNAc), 58.6 (CH Thr), 64.0 (CH₂-6 GlcNAc), 70.8 (CH-4 GlcNAc), 71.9 (CH₂O), 73.2 (CH-5 GlcNAc), 74.0 (CH-3 GlcNAc), 74.1 (CH₂ Bn), 75.4 (CH Thr), 82.9 (C ^tBu), 99.9 (CH-1 GlcNAc), 104.1 (CH Ind), 105.5 (CH Py), 105.5 (CH Py), 114.1 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 119.9 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.5 (CH Ind), 123.6 (CH Ind), 124.1 (C), 124.6 (C), 125.6 (C), 129.0 (CH Bn), 129.2 (CH × 2 Bn), 129.8 (C), 129.8 (CH × 2 Bn), 133.6 (C), 138.8 (C), 141.1 (C Bn), 160.3 (CO), 163.3 (CO), 163.5 (CO), 170.9 (CO), 171.0

(CO), 171.6 (CO), 171.8 (CO), 172.3 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 1223.9 [M + H]⁺, 1224.9 [M + 2]⁺, 1125.9 [M + 3]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3412, 2929, 2855, 1749, 1654, 1515, 1440, 1402, 1369, 1306, 1242, 1156, 1044, 747, 698, 597. **Análisis elemental** calculado para **C₅₃H₆₇N₇O₁₂**: C: 64.03%; H: 6.79%; N: 9.86%; O: 19.31% Hallado: C: 63.79%; H: 6.58%; N: 9.81%.

1.16.2. Preparación de (AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (70)



Compuesto preparada por el mismo procedimiento que el compuesto **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)**⁴² a partir de (AcO)₃-β-O-GlcNAc-Thr-Py(B)[(CH₂)₁₁OBn]-γ-Py(A)-Ind (72) (65 mg, 0.053 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad del producto obtenido: 25 mg. R = 40%. [α]_D = -7.18° (c = 0.9, acetona); **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.16-1.39 (m, CH₂ × 7 + CH₃ Thr, 17H), 1.43-1.54 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.48 (s, CH₃ × 3 (tBu), 9H), 1.66-1.76 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.86 (s, CH₃CONH, 3H), 1.93 (t, J = 6.9 Hz, CH₂ γ, 2H), 1.94 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.98 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.99 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.44 (t, J = 7.0 Hz, CH₂

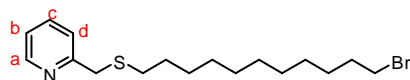
⁴² Sección: 1.10.1.1. Preparación de **cHx-Py[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py-Ind (2.a)**

γ , 2H), 3.39 (dd, $J = 6.3$ Hz, $J = 12.3$ Hz, $\text{CH}_2 \gamma$, 2H), 3.45-3.50 (m, OH, 1H), 3.50-3.57 (m, CH_2O , 2H), 3.83-3.91 (CH-2 + CH-5 GlcNAc, 2H), 3.93 (s, CH_3 , 3H), 4.11 (dd, $J = 12.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz, CH-6' GlcNAc, 1H), 4.26 (dd, $J = 12.3$ Hz, $J = 4.9$ Hz, CH-6 GlcNAc, 1H), 4.29-4.37 (m, CH_2N , 2H), 4.46-4.54 (m, $\text{CH}\alpha + \text{CH}\beta$ Thr, 2H), 4.87 (d, $J = 8.4$ Hz, CH-1 GlcNAc, 1H), 4.99 (t, $J = 9.6$ Hz, CH-4 GlcNAc, 1H), 5.29 (t, $J = 9.9$ Hz, CH-3 GlcNAc, 1H), 6.64 (d, $J = 8.7$ Hz, NH-5, 1H), 6.86 (d, $J = 1.0$ Hz, CH-3 Py B, 1H), 6.91 (d, $J = 1.1$ Hz, CH-3 Py A, 1H), 7.08 (t, $J = 7.5$ Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.18-7.28 (m, CH-6 Ind + CH-3 Ind + NH-6, 3H), 7.31 (d, $J = 1.1$ Hz, CH-5 Py A, 1H), 7.45 (d, $J = 1.1$ Hz, CH-5 Py B, 1H), 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.56-7.58 (m, NH-3, 1H), 7.64 (d, $J = 8.0$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 9.34 (s, NH-4, 1H), 9.68 (s, NH-2, 1H), 10.83 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (100 MHz, acetona- d_6):** δ 17.7 (CH_3 Thr), 21.6 (CH_3 (AcO)), 21.6 (CH_3 (AcO)), 21.7 (CH_3 (AcO)), 24.1 (CH_3CONH), 27.4 ($\text{CH}_2\gamma$), 27.7 (CH_2), 28.3 (CH_2), 29.1, ($\text{CH}_3 \times 3$ ^tBu), 30.0-32.0 ($\text{CH}_2 \times 5$), 33.6 (CH_2), 34.8 (CH_2), 35.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.6 (CH_3), 40.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 50.2 (CH_2N), 56.1 (CH-5 GlcNAc), 58.7 (CH Thr), 63.5 (CH_2O), 64.0, (CH_2 -6 GlcNAc), 70.9 (CH-4 GlcNAc), 73.3 (CH-2 GlcNAc), 74.0 (CH-3 GlcNAc), 75.4 (CH Thr), 82.9 (C ^tBu), 99.9 (CH-1 GlcNAc), 104.1 (CH-3 Ind), 105.3 (CH-3 Py A), 105.5 (CH-3 Py B), 114.1 (CH-7 Ind), 1119.9 (CH-5 Py B), 119.9 (CH-5 Py A), 121.9 (CH-5 Ind), 123.5 (CH-4 Ind), 123.6 (C), 124.1 (C), 124.6 (C), 125.6 (CH-6 Ind), 129.8 (C), 133.7 (C), 138.8 (C), 160.3 (CO), 163.3 (CO), 163.8 (CO), 170.8 (CO), 171.0 (CO), 171.5 (CO), 171.6 (CO), 171.8 (CO), 172.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z :** 1133.9 $[\text{M} + 1]^+$, 1334.9 $[\text{M} + 2]^+$, 1137.9 $[\text{M} + 6]^+$, 1138.9 $[\text{M} + 7]^+$, 1155.9 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1159.9 $[\text{M} + \text{Na} + 1]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3413, 2930, 2855, 2498, 1747, 1698, 1644, 1578, 1530, 1463, 1369, 1310, 1249, 1160, 1044, 775.

2. Preparación de glico-oligoamidas Tipo II

2.1. Preparadas por la Ruta C: Azúcar-NH₂ + HO-Py(B)[(CH₂)₁₁X-O]-γ-Py(A)-Ind

2.1.1. Preparación de Br(CH₂)₁₁SCH₂py (79)



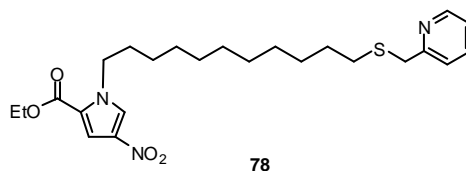
79

Una disolución de hidrocloreto de 2-picolil cloro (1.5 g, 9.6 mmol) y tiourea (0.9 g, 12.2 mmol) en etanol (20 ml) se calienta durante 1 h. a reflujo. Se forma un sólido blanco. Transcurrido este tiempo, la reacción se enfría a t. a. y se filtra. El sólido blanco se lava con etanol y se seca a vacío. R = 99%.

Al compuesto formado (500 mg, 2.1 mmol) se añade una disolución de NaOH (168 mg) en H₂O (10 ml) y se calienta 50 minutos a 70 °C. Transcurrido este tiempo, la mezcla se enfría a t. a. y posteriormente se añade bajo atmósfera de argon otra disolución de NaOH (100 mg) en H₂O (1.2 ml) seguida de otra disolución de 1,11-dibromoundecano (0.5 ml, 2.1 mmol) y Bu₄N⁺Br⁻ (60 mg, 0.2 mmol) en acetonitrilo (10 ml). La reacción se agita 18 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se extrae con CH₂Cl₂/H₂O. Se separan las fases y la fase orgánica seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B): A/B 100:0, A/B 40:1, A/B 30:1, A/B 20:1. Cantidad de producto, Br(CH₂)₁₁SCH₂py (79), obtenido: 300 mg (aceite). R = 41%. También se obtiene pyCH₂S(CH₂)₁₁SCH₂py: 95 mg R = 12%. Caracterización de Br(CH₂)₁₁SCH₂py (79): ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1.10-1.42 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.42-1.58 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.74-1.86 (m, CH₂CH₂Br, 2H), 2.40-2.57 (m, CH₂S, 2H), 3.39 (t, J = 6.9 Hz, CH₂Br, 2H), 3.82 (s, CH₂Py, 2H), 7.14 (dd, J

= 5.1 Hz, J = 6.5 Hz, CH-b py, 1H), 7.36 (d, J = 7.8 Hz, CH-d py, 1H), 7.64 (dt, J = 1.8 Hz, J = 7.7 Hz, CH-c py, 1H), 8.51 (d, J = 4.1 Hz, CH-a py, 1H). ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 28.1 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.8 (CH_2), 29.1 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.4 ($\text{CH}_2 \times 2$), 31.7 (CH_2S), 32.8 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 34.0 (CH_2Br), 38.2 (CH_2py), 121.7 (CH-b py), 123.0 (CH-d), 136.6 (CH-c), 149.1 (CH-a), 159.1 (C). E. M. (ES +) m/z : 358.1 $[\text{M} + 1]^+$, 360.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. IR (KBr) (cm^{-1}): 1433, 1467, 1568, 1590, 1714, 2853, 2925, 3395. Análisis elemental calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{BrNS}$: C%: 56.97, H: 7.87%, N: 3.91%, S: 8.95%, Br: 22.30%. Hallado: C: 57.12%, H: 8.27%, N: 3.64%, S: 9.15%.

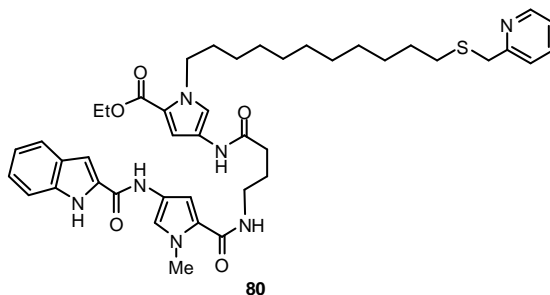
2.1.2. Preparación de EtO-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$]-NO₂ (78)



A una suspensión de EtO-Py(B)-NO₂ (20) (515 mg, 2.8 mmol) y K_2CO_3 (10.7 g, 84.0 mmol) en acetona (6 ml) se añade lentamente $\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$ (79) (1.0 g, 2.8 mmol) disuelto en acetona (10 ml). La reacción se agita 96 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (1M) y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO_3 , con una disolución saturada de NaCl, se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/acetona (4:1). Cantidad de compuesto, EtO-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$]-NO₂ (78), obtenido: 420 mg (aceite). R = 32%. Recuperándose también $\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$ (79) (425 mg, 42%) y EtO-Py-NO₂ (20) (300 mg, 58%). Caracterización de EtO-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{SCH}_2\text{py}$]-NO₂ (78):

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1.20-1.35 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.38 (t, *J* = 7.1 Hz, CH₃, 3H), 1.49-1.60 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.73-1.84 (m, CH₂CH₂N, 2H), 2.45-2.51 (m, CH₂S, 2H), 3.84 (s, CH₂py, 2H), 4.31 (c, *J* = 7.1 Hz, *J* = 7.1 Hz, CH₂, 2H), 4.30-4.37 (m, CH₂N, 2H), 7.15 (dd, *J* = 5.1 Hz, *J* = 6.5 Hz, CH-b py, 1H), 7.37 (d, *J* = 7.8 Hz, CH-d py, 1H), 7.47 (d, *J* = 1.5 Hz, CH Py, H), 7.61 (d, *J* = 1.6 Hz, CH Py, H), 7.65 (dt, *J* = 1.8 Hz, *J* = 7.7 Hz, CH-c py, 1H), 8.53 (dc, *J* = 4.1 Hz, CH-a py, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ 14.2 (CH₃), 26.4 (CH₂), 28.8 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.4 (CH₂ × 3), 31.1 (CH₂CH₂N), 31.7 (CH₂S), 38.2 (CH₂py), 50.5 (CH₂N), 60.9 (CH₂), 113.0 (CH Py), 121.8 (CH-b py), 122.5 (C), 123.0 (CH-d py), 126.6 (CH Py), 135.3 (C), 136.6 (CH-c py), 149.2 (CH-a py), 159.1 (C), 160.0 (C). **E. M. (ES +) m/z:** 462.5 [M + H]⁺, 463.5 [M + 2]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3402, 3137, 2926, 2854, 1718, 1591, 1568, 1538, 1509, 1433, 1317, 1246, 1190, 1099, 811, 751. **Análisis elemental** calculado para **C₄₁H₅₇N₇O₅**: C: 62.44%, H: 7.64%, N: 9.10%, S: 6.95%. Hallado: C: 62.26%, H: 7.90%, N: 9.40%, S: 7.10%.

2.1.3. Preparación de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (80)**



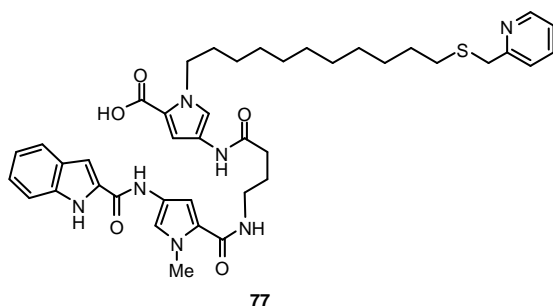
A una disolución de **HO-γ-Py(A)-Ind (16)** (1.5 g, 3.9 mmol) y HOBt (535 mg, 3.9 mmol) en DMF anhidra bajo atmósfera de argon, se añade DIPC (0.6 ml, 3.9 mmol) y se agita 18 h. a t. a. Paralelamente se realiza la reducción del grupo NO₂

del **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)** a amina: a una disolución de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-NO₂ (78)** (1.4 g, 3.0 mmol) y NiCl₂·6H₂O (71 mg, 0.3 mmol) en etanol (15 ml) se añade NaBH₄ (170 mg, 4.5 mmol). El cambio de color de la disolución indica que la reacción ha terminado. Se neutraliza con HCl (10%) y se extrae con AcOEt. Se separan las fases, la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida.

El crudo obtenido se añade en DMF (20 ml) a la reacción de activación del ácido. La reacción se agita 24 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se añade una disolución saturada de CuSO₄ y se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en gradiente de polaridad de hexano(A)/acetona(B): en A/B 2:1 se eluye el DIPU, en A/B 1:1 se eluye el compuesto. Cantidad de producto **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (80)** obtenido: 620 mg. R= 30%. ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.18-1.36 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.28 (t, J = 7.1 Hz, CH₃, 3H), 1.48-1.58 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.65-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.88-1.95 (m, CH₂γ, 2H), 2.41 (t, J = 7.0 Hz, CH₂γ, 2H), 2.49 (t, J = 7.3 Hz, CH₂S, 2H), 3.39 (c, J = 6.3 Hz, J = 12.5 Hz, CH₂γ, 2H), 3.81 (s, CH₂py, 2H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.22 (c, J = 7.1 Hz, J = 7.1 Hz, CH₂, 2H), 4.29 (t, J = 7.2 Hz, CH₂N, 2H), 6.81 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.94 (d, J = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (t, J = 7.5 Hz, CH Ind, 1H), 7.18-7.26 (m, CH py, 1H), 7.21 (d, J = 2.6 Hz, CH Ind, 1H), 7.24 (t, J = 8.1 Hz, CH Ind, 1H), 7.33 (d, J = 1.3 Hz, CH Py, 1H), 7.44 (d, J = 7.8 Hz, CH py, 1H), 7.51 (d, J = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.54-7.61 (m, CH Ind + NH, 2H), 7.63 (d, J = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.74 (t, J = 7.6 Hz, CH-py, 1H), 8.48 (d, J = 4.8 Hz, CH-a py, 1H), 9.36 (s, NH, 1H), 9.73 (s, NH, 1H) y 10.91 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆): δ 15.7 (CH₃), 27.5 (CH₂γ_b), 28.4 (CH₂), (30.4-31.0) (CH₂ × 6), 31.1 (CH₂), 33.1 (CH₂S), 33.4 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃), 39.3 (CH₂ py), 40.4 (CH₂γ), 50.4 (CH₂N),

61.1 (CH₂), 104.1 (CH Ind), 105.4 (CH Py), 109.8 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 120.0 (CH Py), 120.6 (CH Py), 121.5 (C), 121.9 (CH Ind), 123.5 (CH Ind), 123.6 (CH py), 124.1 (C), 124.8 (CH py), 124.9 (C), 125.5 (CH Ind), 125.6 (C), 129.8 (C), 133.6 (C), 138.4 (CH py), 138.8 (C), 150.7 (CH py), 160.3 (C), 161.3 (CO), 162.3 (CO), 163.6 (CO) y 171.4 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 782.8 [M]⁺, 783.8 [M + 1]⁺, 784.7 [M + 3]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3283, 2926, 2853, 1699, 1634, 1576, 1530, 1463, 1404, 1306, 1253, 1145, 1120, 1086, 873, 747. **Análisis elemental** calculado para **C₄₃H₅₅N₇O₅S**: C: 66.04%; H: 7.09%; N: 12.54%; O: 10.23%; S: 4.10% Hallado: C: 65.99%; H: 6.98%; N: 12.62%; S: 3.99%.

2.1.4. Preparación de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)**

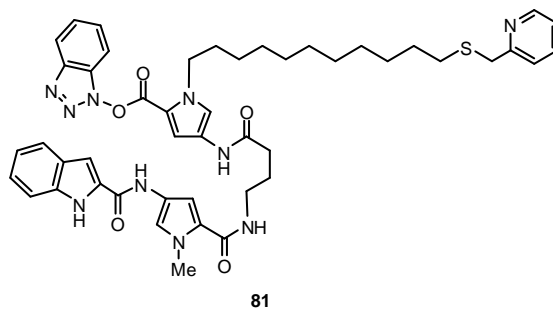


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que para la preparación del compuesto **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**⁴³ a partir de **EtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (80)** (600 mg, 0.767 mmol). El producto se purifica por cromatografía columna en gradiente de polaridad de CH₂Cl₂(A)/MeOH(B): de A/B 8:1 a A/B 5:1. Cantidad de producto obtenido: 540 mg. R = 93 %. **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.18-1.36 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.48-1.57 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.67-1.74 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.93 (t, J = 6.9 Hz,

⁴³ 1.6.1. Sección: Preparación del **HO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (33)**

CH₂γ, 2H), 2.42 (t, $J = 7.0$ Hz, CH₂γ, 2H), 2.48 (t, $J = 7.3$ Hz, CH₂S, 2H), 3.4 (dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 12.5$ Hz, CH₂γ, 2H), 3.83 (s, CH₂py, 2H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.32 (t, $J = 7.2$ Hz, CH₂N, 2H), 6.82 (d, $J = 2.0$ Hz, CH Py, 1H), 6.94 (d, $J = 1.9$ Hz, CH Py, 1H), 7.08 (t, $J = 7.5$ Hz, CH Ind, 1H), 7.18-7.26 (m, CH Ind $\times 2$ + CH py, 3H), 7.32 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.46 (dt, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.8$ Hz, CH py, 1H), 7.54 (d, $J = 2.0$ Hz, CH Py, 1H), 7.56 (dd, $J = 0.7$ Hz, $J = 8.4$ Hz, CH Ind, 1H), 7.58-7.62 (NH, 1H), 7.63 (d, $J = 7.9$ Hz, CH Ind, 1H), 7.76 (dt, $J = 1.8$ Hz, $J = 7.7$ Hz, CH py, 1H), 8.49 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.8$ Hz, $J = 4.9$ Hz, CH-a py, 1H), 9.39 (s, NH, 1H), 9.76 (s, NH, 1H) y 10.93 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆):** δ 27.4 (CH₂γ), 28.2 (CH₂ $\times 2$), 30.4 (CH₂), 30.7 (CH₂), 31.0 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.1 (CH₂ $\times 2$), 33.0 (CH₂S), 33.4 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃ Me), 39.1 (CH₂ py), 40.3 (CH₂γ), 50.3 (CH₂N), 104.1 (CH Ind), 105.3 (CH Py), 110.1 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 120.0 (CH Py), 120.5 (C), 121.6 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.5 (CH Ind), 123.7 (CH py), 124.0 (C), 124.8 (C), 124.9 (CH py), 125.6 (CH Ind), 129.7 (C), 133.5 (C), 138.6 (CH py), 138.7 (C), 150.6 (CH py), 160.2 (C), 161.3 (C), 163.2 (CO), 163.5 (CO), 171.4 (CO) y 173.0 (CO). **E. M. (ES⁻) m/z:** 752.3 [M - H]⁻, 753.3 [M]⁻. **E. M. (ES⁺) m/z:** 754.5 [M + H]⁺, 755.5 [M + 2]⁺, 756.5 [M + 3]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3281, 2925, 2852, 1640, 1579, 1535, 1437, 1404, 1370, 1340, 1307, 1252, 1145, 1119, 1084, 1007, 872, 814, 777, 746, 633. **Análisis elemental** calculado para **C₄₁H₅₁N₇O₅S**: C: 65.31%; H: 6.82%; N: 13.00%; O: 10.61%; S: 4.25% Hallado: C 65.19%; H: 6.92%; N: 13.15%; S: 4.40%.

2.1.5. Preparación de **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (81)**

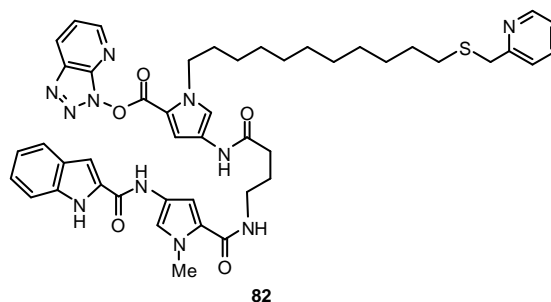


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que para la preparación del compuesto **BtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (46)**⁴⁴ a partir de **HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77)** (500 mg, 0.663 mmol). El producto se purifica por cromatografía columna en AcOEt (100%). Cantidad de producto **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (81)** obtenido: 600 mg. R = 60% Este compuesto no se consiguió aislar puro. Está impurificado con la urea formada en la reacción. En la descripción de los espectros de ¹H-RMN y ¹³C-RMN se hace mención sólo a las resonancias correspondientes al compuesto. **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.14-1.35 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.40-1.58 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.68-1.77 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.97 (m, CH₂γ, 2H), 2.44-2.51 (m, CH₂γ + CH₂S, 4H), 3.39-3.49 (m, CH₂γ, 2H), 3.82 (s, CH₂py, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 4.30 (t, *J* = 7.1 Hz, CH₂N, 2H), 6.67 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.07 (ddd, *J* = 0.9 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.19-7.27 (m, CH × 3 (2 × CH Ind y CH py), 3H), 7.32 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.40 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.45 (d, *J* = 7.5 Hz, CH py, 1H), 7.48-7.58 (m, CH HOBt + CH Ind, 2H), 7.59-7.67 (m, 2H), 7.71-7.78 (2H), 7.89 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 8.09 (dt, *J* = 0.8 Hz, *J* = 8.5 Hz, CH-HOBt, 1H), 8.48 (d, *J* = 4.5 Hz, CH-a py, 1H), 9.66 (s, NH, 1H), 9.75

⁴⁴ 1.8.2. Sección: Preparación del **BtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (46)**

(s, NH, 1H) y 10.89 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆):** δ 27.0 (CH₂γ_b), 28.0 (CH₂), 30.3 (CH₂), 30.7 (CH₂), 30.9 (CH₂), 31.1 (CH₂), 30.2-31.4 (3 × CH₂), 33.0 (CH₂S), 33.0 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.7 (CH₃ Me), 39.1 (CH₂ py), 40.4 (CH₂γ), 50.8 (CH₂N), 104.1 (CH Ind), 105.5 (CH Py), 110.7 (CH Py), 111.3, 112.6, 113.9, 114.0 (CH), 120.0 (CH Py), 120.9 (CH Py), 121.8 (CH), 121.9 (CH), 123.5 (CH), 123.7, 124.1, 124.9, 125.4 (CH), 126.3, 126.5 (CH), 126.7, 129.0, 129.8, 130.6, 131.0 (C), 138.6 (CH py), 138.8 (C), 150.5 (CH py), 158.1 (CO), 160.3 (CO), 161.2 (CO), 163.7 (CO), 172.1 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 871.7 [M + H]⁺, 872.8 [M + 2H]⁺, [M + 3H]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3200-3600, 3140, 3021, 2926, 2849, 1687, 1537, 1510, 1464, 1452, 1428, 1413, 1367, 1311, 1269.

2.2.6. Preparación de AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (82)

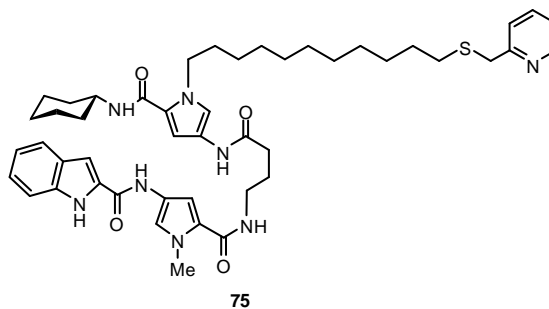


Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que AtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (47)⁴⁵ a partir de HO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (77) (100 mg, 0.132 mmol). El producto se purifica por cromatografía columna en AcOEt (100%). Cantidad de producto AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (82) obtenido: 60 mg. R = 52%. **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.10-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.46-1.58 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.67-1.80 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.92-2.10 (m,

⁴⁵ Sección: 1.8.3. Preparación del AtO-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (47)

CH₂ γ, 2H), 2.44-2.51 (m, CH₂ γ + CH₂S, 4H), 3.39-3.47 (m, CH₂ γ, 2H), 3.80 (s, CH₂py, 2H), 3.94 (s, CH₃, 3H), 4.28-4.35 (m, CH₂N, 2H), 6.69 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.07 (t, $J = 7.5$ Hz, CH Ind, 1H), 7.17-7.26 (m, CH Ind \times 2 + CH py, 3H), 7.31 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.40 (d, $J = 1.6$ Hz, CH Py, 1H), 7.43 (d, $J = 7.8$ Hz, CH py, 1H), 7.55 (d, $J = 8.3$ Hz, CH Ind, 1H), 7.55-7.60 (m, NH, 1H), 7.61 (d, $J = 8.3$ Hz, CH Ind, 1H), 7.62 (d, $J = 8.4$ Hz, CH HOAt, 1H), 7.73 (dt, $J = 7.5$ Hz, $J = 1.5$ Hz, CH py, 1H), 7.93 (d, $J = 1.4$ Hz, CH Py, 1H), 8.47 (d, $J = 4.8$ Hz, CH py, 1H), 8.59 (dd, $J = 1.1$ Hz, $J = 8.4$ Hz, CH HOAt, 1H), 8.80 (d, $J = 4.5$ Hz, CH HOAt, 1H), 9.66 (s, NH, 1H), 9.72 (s, NH, 1H), 10.88 (s, NH, 1H).

¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆): δ 27.4 (CH₂γ), 28.0 (CH₂), 30.4 (CH₂), 30.7 (CH₂), 30.8 (CH₂), 30.9 (CH₂), 31.0 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.1 (CH₂), 33.0 (CH₂), 33.0, (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.7 (CH₃), 39.3 (CH₂ py), 40.4 (CH₂γ), 50.9 (CH₂N), 104.0 (CH Ind), 105.4 (CH Py), 112.6 (CH AtO), 112.6 (CH Py), 113.6, 114.0 (CH-4 Ind), 120.0, 121.9 (CH Ind), 123.1 (CH HOAt), 123.5 (CH Ind), 123.6 (CH AtO), 124.2 (C), 124.8, 125.4 (C), 125.6 (CH Ind), 126.5, 126.6 (CH), 129.8 (CH), 131.2 (C), 133.6, 136.7, 138.4, 138.8, 142.8, 150.7, 153.9, 157.9, 160.3 (CO), 161.4 (CO), 163.6 (CO), 172.0 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 872.3 [M + H]⁺, 873.3 [M + 2H]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3200-3600, 3140, 3021, 2926, 2849, 1687, 1537, 1510, 1464, 1452, 1428, 1413, 1367, 1311, 1269. **Análisis elemental** calculado para **C₄₆H₅₃N₁₁O₅S**: C: 63.36%; H: 6.13%; N: 17.67%; O: 9.17%; S: 3.68%.

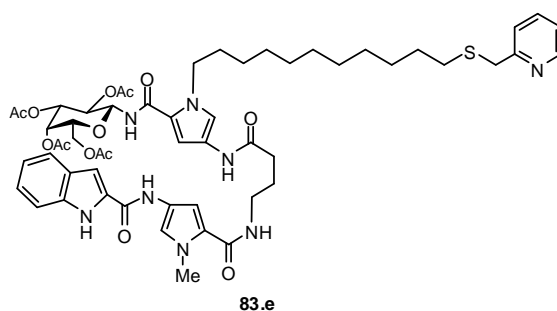
2.1.7. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)**

Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto **(AcO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.c)**⁴⁶ a partir de **BtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (81)** (570 mg, 0.65 mmol) y **cHx-NH₂ (51)** (148 μl, 1.3 mmol). El producto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad en hexano(A)/acetona(B): A/B 2:1 a A/B 1:2. Cantidad de producto, **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (75)**, obtenido: 230 mg. R = 45%. ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.05-1.45 (m, CH₂ × 9, 18H), 1.48-1.64 (m, CH₂CH₂S, + CH₂ cHx, 4H), 1.64-1.77 (m, CH₂CH₂N + CH₂ cHx, 4H), 1.87-1.93 (m, CH₂γ_b + CH₂ cHx, 4H), 2.37 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂γ_c, 2H), 2.44-2.54 (m, CH₂S, 2H), 3.30-3.44 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.83 (sa, CH-1 cHx + CH₂ py, 3H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.31 (t, *J* = 7.1 Hz, CH₂N, 2H), 6.66 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.93 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (t, *J* = 7.3 Hz, CH Ind, 1H), 7.08 (NH-5), 7.19-7.27 (m, CH Ind x 2 + CH Py + CH-b py, 4H), 7.34 (d, *J* = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 7.44 (d, *J* = 7.3 Hz, CH py, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.3 Hz, CH Ind, 1H), 7.55-7.60 (sa, NH-3, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.74 (t, *J* = 7.7 Hz, CH py, 1H), 8.48 (sa, CH-a py, 1H), 9.28 (s, NH-4, 1H), 9.76 (s, NH-2, 1H), 10.90 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (100

⁴⁶ Sección: 1.9.1. Preparación de **(AcO)₃-α/β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (52.b/52.c)**

MHz, acetona- d_6): δ 26.7 (CH₂), 27.1 (CH₂), 27.3 (CH₂), 27.3 (CH₂), 27.4 (CH₂), 27.6 (CH₂ γ), 28.3 (CH₂), 30.4 (CH₂), 31.0 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.5 (CH₂), 33.5 (CH₂), 31.6 (CH₂), 33.1 (CH₂S), 33.7 (CH₂N), 35.4 (CH₂ γ), 37.6 (CH₃), 40.3 (CH₂ γ), 49.7 (CH-1 cHx), 49.9 (CH₂N), 104.1 (CH-3 Ind), 104.9 (CH Py), 105.4 (CH Py), 114.0 (CH-7 Ind), 118.4 (CH Py), 120.0 (CH Py), 122.0 (CH-5 Ind), 123.5 (CH Ind), 124.0 (C), 124.2 (CH py), 124.8 (CH py), 125.1 (C), 125.1 (C), 125.4 (C), 125.6 (CH Ind), 129.8 (C), 133.5 (C), 138.4 (CH py) 138.7 (C), 150.8 (CH py), 160.2 (CO), 161.2 (CO), 162.5 (CO), 163.6 (CO), 171.3 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 835.8 [M + 1]⁺, 836.8 [M + 2]⁺, 837.8 [M + 3]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3330, 2928, 2854, 1698, 1634, 1536, 1463, 1308, 1259, 1027, 846, 802, 750.

2.1.8. Preparación de (AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (83.e)



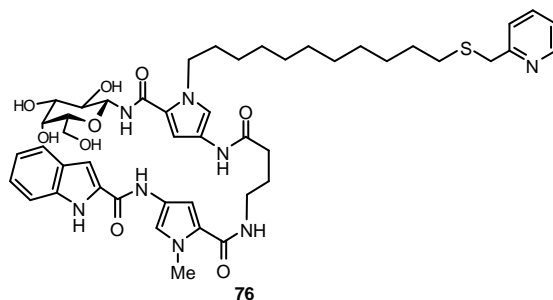
Compuesto sintetizado por el mismo procedimiento que el compuesto (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.c)⁴⁷ a partir de AtO-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind (82) (50 mg, 0.057 mmol) y (AcO)₄- β -Gal-NH₂ (39) (19 mg, 0.057 mmol). El producto se purifica por cromatografía en columna en AcOEt (100%), obteniéndose el producto (AcO)₄- β -Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]- γ -Py(A)-Ind

⁴⁷ 1.9.1. Preparación de (AcO)₃- α -Xyl-Py(B)- γ -Py(A)-Ind (52.b/52.c)

(83.e): 18 mg. R = 30%. ⁴⁸ **¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆):** δ 1.17-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.50-1.60 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.66-1.75 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.90-1.94 (m, CH₂γ_b, 2H), 1.94 (s, CH₃CO, 3H), 1.96 (s, CH₃CO, 3H), 1.97 (s, CH₃CO, 3H), 2.11 (s, CH₃CO, 3H), 2.41 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂γ_c, 2H), 2.49 (t, *J* = 7.3 Hz, CH₂S, 2H), 3.34-3.41 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.80 (s, CH₂ py, 2H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 3.97-4.17 (m, CH₂ Gal, 2H), 4.24-4.37 (m, CH₂N, 2H), 5.17-5.30 (m, CH × 3 Gal, 3H), 5.44 (dd, *J* = 1.2 Hz, *J* = 3.46 Hz, CH Gal, 1H), 5.49 (t, *J* = 9.4 Hz, CH Gal, 1H), 6.71 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.90 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH Ind, 1H), 7.17-7.26 (m, CH-3 Ind + CH-6 Ind + CH-b py, 3H), 7.30 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.43 (td, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.8 Hz, CH-d py, 1H), 7.47 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.56 (dd, *J* = 0.7 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH Ind, 1H), 7.59 (sa, NH, 1H), 7.62 (d, *J* = 7.8 Hz, CH Ind, 1H), 7.73 (dt, *J* = 1.9 Hz, *J* = 7.6 Hz, *J* = 7.7 Hz, CH-c py, 1H), 7.75-7.76 (sa, NH, 1H), 8.46 (ddd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 1.8 Hz, *J* = 4.9 Hz, CH-a py, 1H), 9.4 (s, NH-4, 1H), 9.7 (s, NH-2, 1H), 10.8 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆):** δ 21.5 (CH₃ (AcO)), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 26.5 (CH₂γ), 27.6 (CH₂), 30.0-31.0 (CH₂ × 7), 32.3 (CH₂S), 33.0 (CH₂), 34.9 (CH₂γ), 37.1 (CH₃), 38.6 (CH₂ Py), 39.6, (CH₂γ), 50.4 (CH₂N), 62.5 (CH₂ Gal), 68.8 (CH Gal), 69.0 (CH Gal), 72.6 (CH Gal), 73.3 (CH Gal), 79.4 (CH-1 Gal), 103.3 (CH Ind), 104.7 (CH Py), 105.5 (CH Py), 113.3 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 120.6 (CH Py), 121.3 (CH Ind), 123.0 (C), 123.3 (CH Ind), 123.5 (C), 124.0 (C), 124.1 (C), 124.6 (C), 124.7 (C), 124.9 (CH Ind), 133.6 (C), 128.5 (CH), 137.0 (CH), 137.3 (C), 149.4 (CH), 162.2 (CO), 160.7 (CO), 170.0 (CO), 170.1 (CO), 170.2 (CO), 170.3 (CO), 170.4 (CO), 170.5 (CO). **E. M. (ES +) m/z:** 1083.8 [M + H]⁺, 1085.8 [M + 2]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3350, 2930, 2855, 1749, 1578, 1449, 1230, 1085.

⁴⁸ Debido las pequeñas cantidades manejadas y a una difícil purificación, este compuesto no se consiguió aislar puro. La asignación del espectro de ¹H-RMN se ha realizado en base a sus espectros bidimensionales.

2.1.9. Preparación de (HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (76)



Compuesto sintetizado por el mismo método de obtención del compuesto (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)⁴⁹ a partir de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁SCH₂py]-γ-Py(A)-Ind (83.e) (10 mg, 0.0092 mmol). Se purifica por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH (5:1). Cantidad de compuesto obtenido: 2 mg. R = 24%. ⁵⁰ ¹H-RMN (500 MHz, acetona-d₆): 1.20-1.40 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.47-1.67 (m, CH₂CH₂S, 2H), 1.67-1.77 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.87-1.95 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.39 (m, CH₂γ_c, 2H), 2.49 (t, *J* = 7.3 Hz, CH₂S, 2H), 3.34-3.40 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.56-3.66 (CH × 3 Gal, 3H), 3.66-3.76 (CH × 2 Gal, 2H), 3.81 (s, CH₂ Py, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 3.94-3.97 (d, *J* = 2.8 Hz, OH Gal, 1H), 4.24-4.38 (m, CH₂N, 2H), 5.00 (CH-1 Gal, 1H), 6.89 (sa, CH Py, 1H), 6.96 (sa, CH Py, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 0.8 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 7.9 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.20-7.25 (m, CH-6 Ind + CH-b py + CH-3 Ind, 3H), 7.34 (d, *J* = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 7.40 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.44 (td, *J* = 0.8 Hz, *J* = 7.8 Hz, CH-d py, 1H), 7.50-7.53 (NH), 7.57 (dd, *J* = 0.6 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.0 Hz, CH-4 Ind, 1H), 7.65-7.69 (sa, NH, 1H), 7.74 (dt, *J* = 1.8 Hz, *J* = 7.6 Hz, *J* =

⁴⁹ Sección: 1.10.2.1. Preparación de (HO)₃-β-Xyl-Py(B)-γ-Py(A)-Ind (1.c)

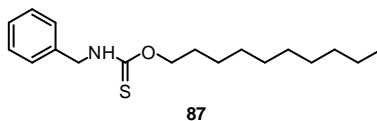
⁵⁰ Debido las pequeñas cantidades manejadas y a una difícil purificación, este compuesto no se consiguió aislar puro. La asignación del espectro de ¹H-RMN se ha realizado en base a sus espectros bidimensionales.

7.7 Hz, CH-c py, 1H), 8.47 (ddd, $J = 0.8$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 4.8$ Hz, CH-a py, 1H), 9.44 (s, NH-4, 1H), 9.89 (s, NH-2, 1H), 11.01 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (500 MHz, acetona- d_6)**: 27.1 ($\text{CH}_2\gamma$), 27.9 (CH_2), 30.0-31.6 ($\text{CH}_2 \times 7$), 32.5 (CH_2S), 33.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 34.9 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.2 (CH_3), 38.7 (CH_2 py), 39.8 ($\text{CH}_2\gamma$), 49.8 (CH_2N), 62.7 (CH_2 Gal), 69.1 (CH Gal), 70.3 (CH Gal), 70.5 (CH Gal), 74.7 (CH Gal), 80.7 (CH-1 Gal), 103.7 (CH-3 Ind), 104.9 (CH Py), 105.4 (CH Py), 113.6 (CH-7 Ind), 119.2 (CH Py), 119.5 (CH Py), 121.5 (CH-5 Ind), 123.1 (C), 123.0 (CH-4 Ind), 124.4 (C), 125.1 (CH-6 Ind), 129.7 (CH), 130.2 (CH), 138.0 (CH), 150.4 (CH), 160.0 (C), 161.9 (CO), 169.4 (CO). **E. M. (ES +) m/z**: 915.8 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 916.8 $[\text{M} + 2]^+$, 917.8 $[\text{M} + 3]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1})**: 3369, 2962, 2923, 2851, 1704, 1456, 1260, 1089, 1026, 800, 759.

2.2. Preparadas por la Ruta D: Azúcar-Py(B)-Py(B)[$(\text{CH}_2)_n$ XH]- γ -Py(A)-Ind (glico-oligoamida Tipo I) + R-O.

2.2.1. Preparación de los modelos alquílicos

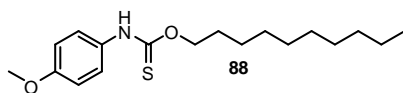
2.2.1.1. Preparación de $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{OCSNHBn}$ (87)



A una disolución de 1-decanol (78 μl , 0.41 mmol) y tioisocianato de bencilo (53 μl , 0.41 mmol) en THF anhidro (1 ml), se añade P1 (250 μl , 0.82 mmol). La disolución se agita durante 72 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, la mezcla se lava con una disolución saturada de ácido cítrico, se extrae con AcOEt y se separan las dos fases. La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (40:1). Cantidad de producto obtenido: (aceite) 60 mg. R = 50%.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0.88 (dd, $J = 6.1$ Hz, $J = 7.2$ Hz, CH_3 , 3H), 1.17-1.41 (m, $\text{CH}_2 \times 7$, 14H), 1.69 (dt, $J = 13.8$ Hz, $J = 6.7$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 2H), 4.44 (d, $J = 5.6$ Hz, CH_2 del Bn, 2H)⁵¹, 4.44 (t, $J = 6.7$ Hz, CH_2O , 2H), 4.49 (t, $J = 6.7$ Hz, CH_2O , 2H), 4.75 (d, $J = 5.6$ Hz, CH_2 del Bn, 2H), 6.45 y 6.92 (s, NH, 1H), 7.21-7.38 (m, $\text{CH} \times 5$ H Bn, 5H). **^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3):** δ 14.1 (CH_3), 22.6 (CH_2), 25.8 (CH_2), 28.6 (CH_2), 28.6 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.5 (CH_2), 31.8 (CH_2), 47.2 (CH_2Bn), 49.3 (CH_2Bn), 70.9 (CH_2O), 72.3 (CH_2O), 127.5 (CH), 127.8 (CH), 127.9 (CH), 128.8 ($\text{CH} \times 2$), 136.8 (C), 190.8 (CS). **E. M. (ES +) m/z:** 308.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 309.0 $[\text{M} + 2]^+$, 330.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3271, 3031, 2925, 2091, 1660, 1516, 1455, 1397, 1340, 1256, 1185, 1074, 971, 697. **Análisis elemental** calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NOS}$: C: 70.31%; H: 9.51%; N: 4.56%; O: 5.20%; S: 10.43%.

2.2.1.2. Preparación de *p*-MeO-Ph-NHCSO(CH_2)₉CH₃ (88)

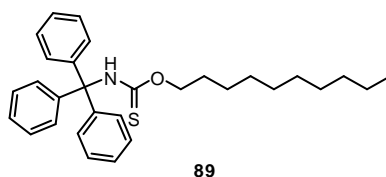


A una disolución de 1-decanol (70 μl , 0.363 mmol) y tioisocianato de *p*-metoxifenilo (51 μl , 0.363 mmol) en THF anhidro (1 ml) se añade P1 (220 μl , 0.726 mmol). La disolución se agita durante 72 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, la disolución se lava con una disolución saturada de ácido cítrico, se extrae con AcOEt, se separan las dos fases y la fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B):

⁵¹ Las señales correspondientes al NH, al CH_2Bn y al CH_2O aparecen desdobladas tanto en ^1H como en ^{13}C .

A/B 40:1 y luego A/B 20:1. Cantidad de producto obtenido: 30 mg (aceite). R = 42%. **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃):** δ 0.88 (t, *J* = 6.3 Hz, CH₃, 3H), 1.10-1.60 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.66-1.80 (m, CH₂CH₂O, 2H), 3.80 (s, CH₃O, 3H), 4.42-4.60 (m, CH₂O, 2H)⁵², 6.71-7.02 (m, CH × 2, 2H), 7.04-7.28 (m, CH × 2, 2H), 7.30-7.45 (m, CH × 2, 2H)⁵², 7.89 y 8.41 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃):** δ 14.0 (CH₃), 22.6 (CH₂), 25.8 (CH₂), 26.2 (CH₂), 28.4 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.2 (CH₂), 29.4 (CH₂), 31.8 (CH₂), 55.3 (CH₃O), 70.7 y 72.8 (CH₂O), 114.0 (CH × 2 Ph), 123.5 (CH × 2 Ph), 125.7 (CH × 2)⁵², 130.0 (C), 157.0 (C), 188.6 (CS). **E. M. (ES +) m/z:** 324.5 [M + H]⁺, 325.5 [M + 2]⁺, 346.5 [M + Na]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3225, 2925, 2854, 1596, 1512, 1464, 1406, 1364, 1298, 1249, 1179, 1038, 828. **Análisis elemental** calculado para C₁₈H₂₉NO₂S: C: 66.83%; H: 9.04%; N: 4.33%; O: 9.89%; S: 9.91%.

2.2.1.3. Preparación de Tritilo-NHCSO(CH₂)₉CH₃ (89)



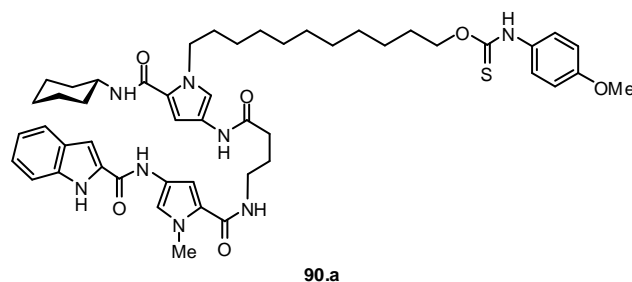
A una disolución de 1-decanol (63 µl, 0.331 mmol) y tioisocianato de tritilo (99 µl, 0.331 mmol) en THF anhidro (1 ml), se añade P1 (0.2 ml, 0.663 mmol). La disolución se agita durante 6 días a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución saturada de ácido cítrico. Se extrae con AcOEt, se separan las dos fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en

⁵² Las señales correspondientes al NH, a los CH *orto* y *meta* del anillo de *p*-metoxifenilo y al CH₂O aparecen desdobladas tanto en ¹H como en ¹³C.

hexano/AcOEt (40:1). Cantidad de producto obtenido: 30 mg (aceite). R = 15%. **¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ 0.74-0.84 (m, CH₂, 2H), 0.84-0.93 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₃, 3H), 0.93-1.19 (m, CH₂ × 3, 6H), 1.19-1.36 (m, CH₂ × 4, 8H), 4.06 (t, *J* = 6.4 Hz, CH₂O, 2H), 7.17-7.22 (m, CH × 5, 5H), 7.22-7.33 (m, CH × 10, 10H), 7.76 (s, NH, 1H). **¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃):** δ 14.1 (CH₃), 22.7 (CH₂), 25.5 (CH₂), 27.8 (CH₂), 29.0 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.4 (CH₂), 31.9 (CH₂), 72.6 (CH₂O), 73.5 (C), 127.2 (CH × 3), 128.0 (CH × 6), 128.5 (CH × 6), 143.8 (C × 3), 190.7 (C=S). **E. M. (ES +) m/z:** 482.2 [M + Na]⁺, 483.3 [M + Na + 1]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3428, 3059, 3025, 2925, 2854, 2253, 1633, 1597, 1478, 1447, 1403, 1334, 1261, 1219, 1163, 1082, 1034, 899, 800, 754, 699, 649. **Análisis elemental** calculado para **C₃₀H₃₇NOS**: C: 78.38%; H: 8.11%; N: 3.05%; O: 3.48%; S: 6.98%.

2.2.2. Preparación de los compuestos **90.a** y **90.c**

2.2.2.1. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁C=SNHPh-*p*-OMe]-γ-Py(A)-Ind (90.a)**

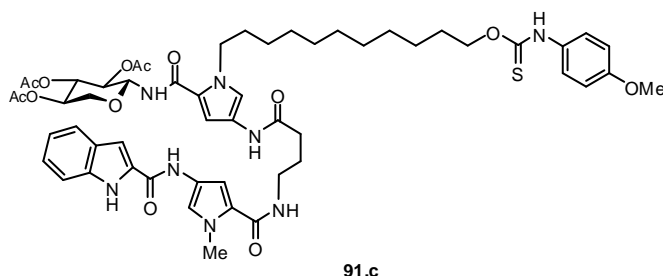


A una disolución de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)** (25 mg, 0.034 mmol) en THF (1 ml) se añade tioisocianato de *p*-metoxifenilo (4.7 μl, 0.034 mmol) y P1 (10 μl, 0.034 mmol) bajo atmosfera de Argón. La reacción se agita 72

h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (10%), se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 18 mg. R = 60%. **¹H-RMN (500 MHz, acetona-d₆):** δ 1.19-1.46 (m, CH₂ × 8, 16H), 1.56-1.65 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.65-1.80 (m, CH₂ + CH₂ cHx, 4H), 1.85-1.95 (m, CH₂ γ, 2H), 2.37 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.37 (t, *J* = 6.6 Hz, *J* = 6.6 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.78 (sa, CH-1 cHx, 1H), 3.79 (s, OCH₃, 3H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.32 (m, CH₂N, 2H), 4.40-4.47 (m, 1H de CH₂O, 1H)⁵³, 4.48-4.55 (m, 1H de CH₂O, 1H), 6.63 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.88-6.94 (m, CH × 4 Ph, 4H), 7.04-7.06 (m, NH-5, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 0.9 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.20 (sa, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, *J* = 1.1 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH-6 Ind, 1H), 6.24-6.26 (sa, CH x 2, 2H), 7.32 (d, *J* = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.46 y 7.48 (sa, NH-6, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.3 Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.57-7.63 (m, NH-3, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, CH-4 Ind, 1H), 9.26 (s, NH-4, 1H), 9.73 (s, NH-2, 1H), 10.86 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆):** δ 27.0 (CH₂ × 2), 27.1 (CH₂ × 2), 27.5 (CH₂), 27.6 (CH₂), 28.2 (CH₂), 30.0-31.0 (CH₂ × 5), 33.7 (CH₂CH₂N), 34.7 (CH₂ cHx), 34.7 (CH₂ cHx), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃), 40.4 (CH₂γ), 49.7 (CH-1 cHx), 49.9 (CH₂N), 56.6 (OCH₃), 71.3 (CH₂O), 73.3 (CH₂O), 104.0 (CH-3 Ind), 104.8 (CH Py), 105.3 (CH Py), 114.0 (CH-4 Ind), 115.3 (CH × 2 Ph), 115.6 (C Ph), 115.7 (CH × 2 Ph), 118.4 (CH Py), 119.9 (CH Py), 121.9 (CH-5 Ind), 123.5 (CH-4 Ind), 124.0 (C), 124.1 (C), 124.1 (C), 124.2 (C), 125.0 (C), 125.4 (C), 125.6 (CH Ind), 129.7 (C), 133.5 (C), 138.7 (C), 160.2 (CO), 162.5 (CO), 163.5 (CO), 171.3 (CO), 187.5 (CS). **E. M. (ES +) m/z:** 899.7 [M + 6]⁺, 915.8 [M + Na]⁺, 916.8 [M + 1 + Na]⁺, 917.8 [M + 2 + Na]⁺.

⁵³ El CH₂O de la cadena aparece desdoblado tanto en ¹H como en ¹³C.

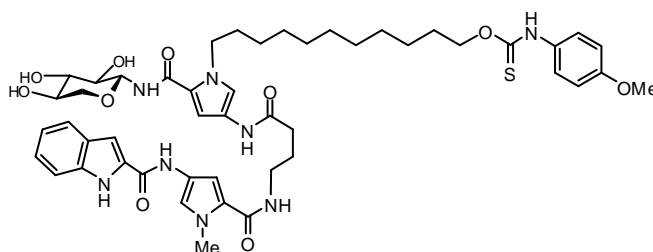
2.2.2.2. Preparación de (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁C=SNHPh-*p*-OMe]- γ -Py(A)-Ind (91.c)



A una disolución de (AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.c) (40 mg, 0.044 mmol) en THF (1 ml) se añade tioisocianato de *p*-metoxifenilo (6 μ l, 0.044 mmol) y P1 (16.5 μ l, 0.044 mmol) bajo atmósfera de argón. La reacción se agita 72 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (10%), se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna en hexano/AcOEt (1:40). Cantidad de producto obtenido: 25 mg. R = 55%. $[\alpha]_D^{20} = -6.2^\circ$ (c = 0.5, acetona); ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.20-1.42 (m, CH₂ \times 8, 16H), 1.66-1.78 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.91 (t, *J* = 6.6 Hz, CH₂ γ , 2H), 1.95 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.99 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.01 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.40 (t, *J* = 6.8 Hz, CH₂ γ , 2H), 3.38 (dd, *J* = 6.0 Hz, *J* = 12.2 Hz, CH₂ γ , 2H), 3.57 (t, *J* = 10.9 Hz, CH-5 Xyl, 1H), 3.79 (sa, OCH₃, 3H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 3.97-4.06 (m, CH-5 Xyl, 1H), 4.25-4.39 (m, CH₂N, 2H), 4.40-4.56 (CH₂O, 2H), 4.87-4.96 (m, CH-4 Xyl, 1H), 5.05 (t, *J* = 9.4 Hz, CH-2 Xyl, 1H), 5.35 (t, *J* = 9.5 Hz, CH-3 Xyl, 1H), 5.37 (t, *J* = 9.3 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.64 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 6.83-6.95 (CH Py + CH \times 4 Ph, 5H), 7.08 (ddd, *J* = 0.9 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.2 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.20 (sa, CH-3

Ind, 1H), 7.24 (ddd, $J = 1.1$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.2$ Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.31 (d, $J = 1.6$ Hz, CH Py, 1H), 7.45 (d, $J = 1.7$ Hz, CH Py, 1H), 7.56 (dd, $J = 0.6$ Hz, $J = 8.1$ Hz, CH-7 Ind y NH-3, 2H), 7.62-7.67 (CH-4 Ind y NH-5, 2H), 9.33 (s, NH-4, 1H), 9.68 (s, NH-2, 1H), 10.82 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (100 MHz, acetona- d_6):** δ 21.6 ($\text{CH}_3 \times 2$ (AcO)), 21.7 (CH_3 (AcO)), 27.4 ($\text{CH}_2\gamma$), 27.6 (CH_2), 28.3 (CH_2), 30.0 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O} + \text{CH}_2 \times 5$), 33.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 35.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.6 (CH_3), 40.4 ($\text{CH}_2\gamma$), 50.3 (CH_2N), 56.7 (OCH_3), 65.8 (CH_2 -5 Xyl), 70.9 (CH -4 Xyl), 74.8 (CH -2 Xyl), 72.8 (CH_2O), 74.6 (CH -3 Xyl), 80.3 (CH -1 Xyl), 104.0 (CH -3 Ind), 105.3 (CH Py), 106.0 (CH Py), 114.0 (CH -4 Ind), 115.4 ($\text{CH} \times 2$ Ph), 115.7 ($\text{CH} \times 2$ Ph), 119.9 (CH Py), 120.4 (CH Py), 121.9 (CH -5 Ind), 123.3 (CH -4 Ind), 123.5 (CH -6 Ind), 124.0 (C), 124.1 (C), 124.6 (C), 124.7 (C), 125.6 (C), 129.8 (C), 129.8 (C), 138.6 (C), 138.8 (C), 162.7 (CO), 162.8 (CO), 163.6 (CO), 171.2 (CO), 171.3 (CO), 171.4 (CO), 171.6 (CO), 207.0 (CS). **E. M. (ES +) m/z :** 1069.6 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 1070.6 $[\text{M} + 2]^+$. **IR (entre cristales) (cm^{-1}):** 3368, 2926, 2851, 1740, 1650, 1513, 1440, 1248, 1034, 801. **Análisis elemental** calculado para **$\text{C}_{54}\text{H}_{68}\text{N}_8\text{O}_{13}\text{S}$** : C: 60.66%; H: 6.41%; N: 10.48%; O: 19.45%; S: 3.00%.

2.2.2.3. Preparación de (HO) $_3$ - β -Xyl-Py(B)[$(\text{CH}_2)_{11}\text{OC}=\text{SNHPh-}p\text{-OMe}$]- γ -Py(A)-Ind (90.c)

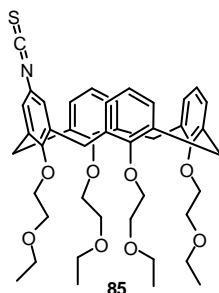


90.c

A una disolución de (AcO)₃-β-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNHPh-*p*-OMe]-γ-Py(A)-Ind (91.c) (10 mg, 0.093 mmol) en metanol (1 ml) a 0 °C se añade NaOMe (2 mg, 0.026 mmol) en metanol (1 ml). La reacción se agita durante 30 min. a t. a. Se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purificación por cromatografía en columna en CH₂Cl₂/MeOH 5:1. Cantidad de producto obtenido: 3 mg. R = 40%. $[\alpha]_D^{20} = -0.021^\circ$ (c = 0.2, acetona); ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 1.17-1.66 (m, CH₂ × 8, 16H), 1.66-1.79 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.85-1.96 (m, CH₂ γ, 2H), 2.38 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂ γ, 2H), 3.28 (dd, *J* = 9.6 Hz, *J* = 11.1 Hz, 1H de CH₂-5 Xyl, 1H), 3.38 (dd, *J* = 6.0 Hz, *J* = 12.2 Hz, CH₂γ, 2H), 3.42-3.55 (m, CH-2 + CH-3 + CH-4 Xyl, 3H), 3.79 (sa, OCH₃, 3H), 3.82 (dd, *J* = 4.8 Hz, *J* = 11.5 Hz, CH-5' Xyl, 1H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.26-4.38 (m, CH₂N, 2H), 4.38-4.47 (CH₂O, 2H), 5.06 (t, *J* = 8.4 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.82 (sa, CH Py, 1H), 6.90 (sa, CH Py, 1H), 6.92-6.94 (CH × 4 Ph, 4H), 7.08 (ddd, *J* = 0.9 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 7.9 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.20 (sa, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.0 Hz, *J* = 8.1 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.32 (d, *J* = 1.4 Hz, CH Py, 1H), 7.35 (d, *J* = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 7.44-7.50 (sa, NH x 3, 3H), 7.57 (d, *J* = 8.3 Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.64 (CH-4 Ind, 1H), 9.33 (s, NH-4, 1H), 9.78 (s, NH-2, 1H), 10.92 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆): δ 27.2 (CH₂γ), 27.3 (CH₂), 28.0 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.0-31.0 (CH₂ × 5), 33.3 (CH₂CH₂N), 35.1 (CH₂γ), 37.3 (CH₃), 40.0 (CH₂γ), 50.0 (CH₂N), 56.3 (OCH₃), 68.5 (CH₂-5 Xyl), 71.3, 71.9, 73.4, 74.1, 79.3, 80.2 (CH-1 Xyl), 103.8 (CH-3 Ind), 105.0 (CH Py), 105.6 (CH Py), 113.7 (CH Ind), 115.2 (C), 115.4 (CH × 4 Ph), 119.3 (CH Py), 119.6 (CH Py), 121.6 (CH Ind), 123.2 (CH Ind), 123.4 (C), 123.7 (C), 123.8 (C), 124.2 (C), 125.1 (C), 125.2 (CH Ind), 129.4 (C), 138.3 (C), 160.1 (CO), 163.0 (CO), 163.6 (CO), 165.4 (CO), 171.3 (CS). **E. M. (ES +) m/z:** 949.7 [M + 6]⁺, 950.7 [M + 8]⁺, 965.8 [M + Na]⁺, 966.7 [M + 1 + Na]⁺, 967.5 [M + 2 + Na]⁺.

2.2.3. Preparación de los derivados de calix-[4]-arenos

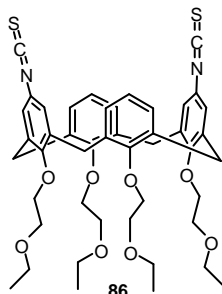
2.2.3.1. Caracterización de *p*-monotioisocianato-calix-[4]-areno (85)



¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.17 (t, $J = 7.0$ Hz, CH₃ \times 2, 6H), 1.20 (t, $J = 7.0$ Hz, CH₃, 3H), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, CH₃, 3H), 3.08 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H de un sistema AB \times 2, 2H), 3.16 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H de un sistema AB \times 2, 2H), 3.51 (dd, $J = 6.7$ Hz, $J = 13.6$ Hz, CH₂ \times 2, 4H), 3.54 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 14.0$ Hz, CH₂, 2H), 3.55 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 14.0$ Hz, CH₂, 2H), 3.75-3.87 (CH₂ \times 4, 8H), 3.99-4.06 (CH₂ \times 2, 4H), 4.07-4.22 (CH₂ \times 2, 4H), 4.48 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H de un sistema AB \times 2, 2H), 4.483 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H de un sistema AB \times 2, 2H), 6.22 (s, CH \times 2, 2H), 6.42 (d, $J = 7.5$ Hz, CH \times 2, 2H), 6.54 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, CH, 1H), 6.74 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 14.6$ Hz, CH \times 2, 2H), 6.80 (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 7.5$ Hz, CH \times 2, 2H), 6.86 (dd, $J = 2.0$ Hz, $J = 7.1$ Hz, CH \times 2, 2H). **¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ 15.2 (CH₃), 15.3 (CH₃), 15.3 (CH₃ \times 2), 30.7 (CH₂ \times 2), 30.8 (CH₂ \times 2), 66.2 (CH₂ \times 2), 66.4 (CH₂), 66.4 (CH₂), 69.6 (CH₂ \times 2), 69.6 (CH₂ \times 2), 72.9 (CH₂ \times 2), 73.4 (CH₂), 73.7 (CH₂), 122.3 (CH), 122.4 (CH \times 2), 125.1 (CH \times 2), 127.9 (CH \times 2), 128.3 (CH \times 2), 129.0 (CH \times 2), 134.3 (C \times 2), 134.9 (C \times 2), 136.0 (C \times 2), 136.3 (C \times 2), 155.3 (C), 155.6 (C), 157.0 (C \times 2), 170.6 (CS). **E. M. (ES +) m/z:** 792.5 [M + Na]⁺, 793.5 [M + Na + 1]⁺. **IR (entre**

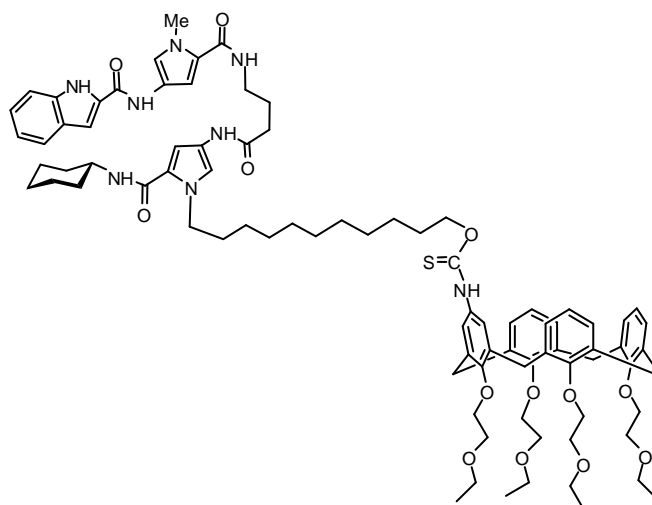
cristales) (cm⁻¹): 3400, 2974, 2927, 2866, 2132, 1584, 1463, 1382, 1286, 1246, 1213, 1120, 1051, 921, 867, 839, 761.

2.2.3.2. Caracterización de *p*-1,3-ditioisocianato-calix-[4]-areno (**86**)



¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.18 (t, J = 7.0 Hz, 2 \times CH₃, 6H), 1.19 (t, J = 7.0 Hz, 2 \times CH₃, 6H), 3.10 (d, J = 13.6 Hz, 4H), 3.47-3.49 (4 \times CH₂ (EtO), 8H), 3.79 (t, J = 5.6 Hz, 2 \times CH₂, 4H), 3.80 (t, J = 5.3 Hz, 2 \times CH₂, 4H), 4.09 (t, J = 5.6 Hz, 2 \times CH₂, 4H), 4.10 (t, J = 5.6 Hz, 2 \times CH₂, 4H), 4.48 (d, J = 13.6 Hz, 4H), 6.51 (sa, CH \times 4 calix, 4H), 6.67 (sa, CH \times 6 calix, 6H). **¹³C-RMN (400 MHz, CDCl₃):** 15.4 (CH₃ \times 4), 30.8 (CH \times 4), 68.5 (CH₂ (EtO) \times 4), 69.8 (CH₂ \times 4), 73.7 (CH₂ \times 4), 122.9 (CH calix \times 2), 125.3 (CH calix \times 4), 128.6 (CH calix \times 4), 134.5 (C calix \times 4), 136.4 (C calix \times 4), 156.0 (C \times 2), 156.1 (C \times 2). **E. M. (ES +) m/z:** 849.36 [M + Na]⁺, 867.5 [M + Na + H₂O]⁺. **IR (entre cristales) (cm⁻¹):** 3400, 2972, 2923, 2862, 2125, 1648, 1450, 1217, 1121.

2.2.3.3. Preparación de **cHx-Py[(CH₂)₁₁OC=SNH- *p*-calix-[4]-areno]-γ-Py-Ind (84.a)**



84.a

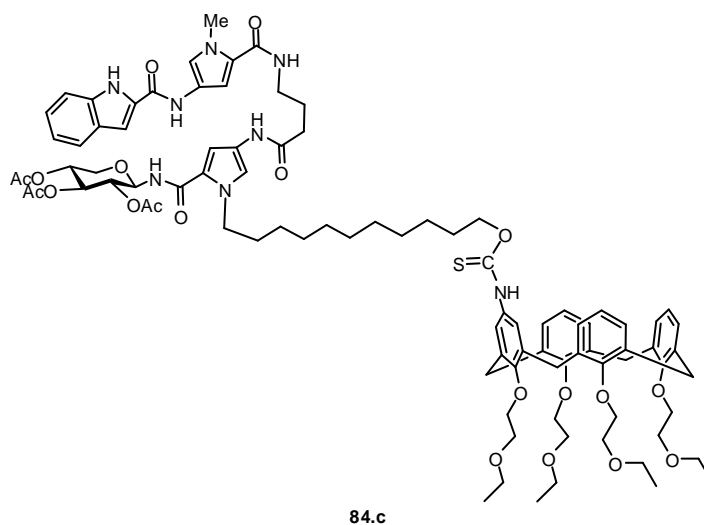
A una disolución de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)** (50 mg, 0.068 mmol) y ***p*-SCN-calix-[4]-areno (85)** (52.3 mg, 0.068 mmol) en THF destilado (1 ml) bajo atmosfera de árgon se añade P1 (18 µl, 0.068 mmol). La reacción se agita 96 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (10%), se extrae con AcOEt. Se separan las fases y la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad en hexano(A)/AcOEt(B): A/B 2:1 para eluir el ***p*-SCN-calix-[4]-areno (85)**; A/B 1:10 para obtener **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH- *p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (84.a)** y B 100% para eluir la oligoamida de partida, **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)**. Cantidad de producto obtenido: 5 mg. R = 4%. Esta reacción

también se ha realizado empleando la base de Verkade⁵⁴ en lugar de P1; en este caso el R = 10%. **¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆):** δ 1.09-1.48 (m, CH₃ calix × 4, 12H + CH₂ × 7, 14H + CH₂ × 2 cHx, 4H), 1.55-1.84 (m, CH₂CH₂N + CH₂CH₂O, CH₂ × 2 cHx, 8H), 1.84-1.95 (m, CH₂γ_b + CH₂ cHx, 4H), 2.37 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.10 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H sistema AB calix, 1H), 3.13 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H sistema AB calix, 1H), 3.16 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H sistema AB calix × 2, 2H), 3.38 (dd, *J* = 6.4 Hz, *J* = 12.4 Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.51-3.66 (m, CH₂ × 4 calix, 8H), 3.86-3.94 (m, CH₂ calix × 4 + H-1 cHx, 9H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 4.02-4.19 (m, CH₂ calix × 4 + CH₂O, 10H), 4.26-4.36 (m, CH₂N, 2H), 4.55 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H sistema AB calix, 1H), 4.58 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H sistema AB calix × 3, 3H), 6.48-6.80 (m, CH calix × 11, 11H), 6.63 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py-3B, 1H), 6.90 (d, *J* = 1.9 Hz, CH Py-3A, 1H), 7.02 (d, *J* = 7.3 Hz, NH, 1H), 7.08 (ddd, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 8.0 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.19 (sa, CH-3 Ind, 1H), 7.20-7.28 (m, H-6 Ind + CH Py-5B, 2H), 7.32 (d, *J* = 1.7 Hz, CH Py-5A, 1H), 7.56 (dd, *J* = 0.8 Hz, *J* = 8.3 Hz, CH-7 Ind + NH, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.1 Hz, CH-4 Ind, 1H), 9.23 (s, NH-4, 1H), 9.70 (s, NH-2, 1H), 10.85 (s, NH-1, 1H). **¹³C-RMN (125 MHz, acetona):** δ 16.7 (CH₃ × 4 calix), 27.0-28.0 (CH₂γ_b + CH₂ × 5), 28.2 (CH₂), 30.0-31.5 (5 × CH₂), 32.5 (CH₂ calix), 33.5 (CH₂), 34.8 (CH₂ cHx), 34.5 (CH₂ cHx), 35.2 (CH₂γ), 37.8 (CH₃), 40.2 (CH₂γ), 49.7 (C-1 cHx), 49.9 (CH₂N), 65.8 (CH₂O), 67.7 (CH₂ × 4 calix), 71.5 (CH₂ × 2 calix), 71.5 (CH₂ × 2 calix), 75.1 (CH₂ × 2 calix), 75.3 (CH₂ × 2 calix), 104.0 (CH-3 Ind), 104.7 (CH Py), 105.2 (CH Py), 114.0 (CH-7 Ind), 118.3 (CH Py), 119.8 (CH Py), 121.9 (CH-5 Ind), 123.5 (CH Ind), 124.0 (C), 124.1 (CH calix), 124.2 (C), 124.3, 125.0, 125.4, 125.5 (CH Ind),

⁵⁴ a) Tang, J.-S.; Verkade, J. G. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 896-898. b) Bosco A. D'Sa; Verkade, J. G. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2963-2966. c) Tang, J.; Dopke, J.; Verkade, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5015-5020. d) Tang, J.; Mohan, T.; Verkade, J. G. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 4931-4938.

126.7, 126.8, 127.1, 127.1, 129.8, 129.8, 130.0, 130.2, 130.3, 133.6 (C), 136.0, 136.5, 136.9, 136.9, 138.8, 139.0 (C), 154.0 (C calix), 155.0 (C calix), 158.0 (C calix), 158.1 (C calix), 158.5 (C calix), 158.8 (C calix), 159.3 (C calix), 160.0 (C calix), 162.4 (CO), 163.5 (CO), 170.8 (CO), 172.9 (CO), 189.5 (CS). **Maldi-Tof** (matriz de ácido hidroxibenzoico) m/z : 1520.77 $[M + Na]^+$, 1521.76 $[M + Na + H]^+$.

2.2.3.4. Preparación de **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.c)**



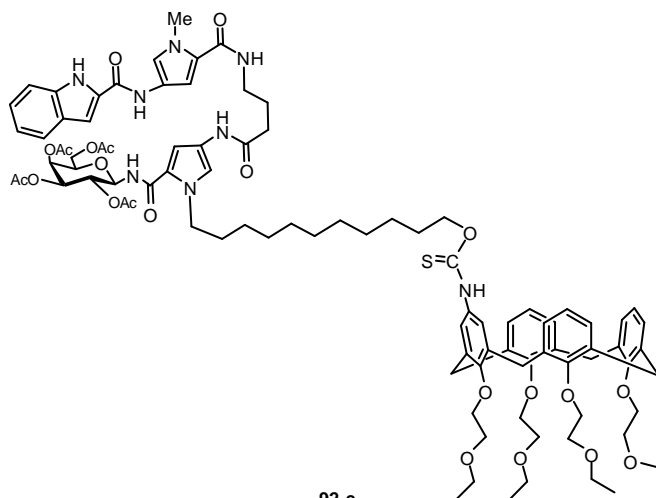
El compuesto **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.c)** se prepara por el mismo procedimiento que **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.a)**⁵⁵ a partir de **(AcO)₃- β -Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]- γ -Py(A)-Ind (60.c)** (50 mg, 0.055 mmol) y *p*-

⁵⁵ Sección: 2.2.3.3. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]- γ -Py(A)-Ind (84.a)**

SCN-[4]-calixareno (85) (42.53 mg, 0.055 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad en hexano(A)/AcOEt(B): A/B 2:1 para eluir el *p*-SCN-calix-[4]-areno (**85**); A/B 1:10 para obener (**AcO**)₃-*β*-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-*γ*-Py(A)-Ind (**84.c**) y B 100% para eluir la oligoamida de partida, (**AcO**)₃-*β*-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-*γ*-Py(A)-Ind (**60.c**). Cantidad de producto obtenido: 5 mg, R = 3% (sin tener en cuenta producto de partida recuperado). (28% de *p*-SCN-[4]-calixareno (**85**) recuperado y 50% de (**AcO**)₃-*β*-Xyl-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-*γ*-Py(A)-Ind (**60.c**) recuperado). $[\alpha]_D^{25} = -4.38^\circ$ (c = 0.3, acetona); ¹H-RMN (500 MHz, acetona-d₆): δ 1.04-1.44 (m, CH₃ calixareno × 4 + CH₂ × 7, 26H), 1.54-1.64 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.64-1.76 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.88-1.96 (m, CH₂γ_b, 2H), 1.95 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.98 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.01 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.39 (t, J = 7.0 Hz, CH₂γ_c, 2H), 3.16 (d, J = 13.6 Hz, 1H de un CH₂ de un sistema AB × 4, 4H), 3.38 (dd, J = 6.3 Hz, J = 12.5 Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.50-3.66 (m, CH₂ × 4 calix + 1H de CH₂-5 Xyl, 9H), 3.86-3.91 (m, CH₂ × 4 calix, 8H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 3.98-4.02 (m, 1H de CH₂-5 Xyl, 1H), 4.01 (t, J = 6.7 Hz, CH₂O, 2H), 4.07-4.20 (m, CH₂ × 4 calix, 8H), 4.22-4.40 (m, CH₂N, 2H), 4.58 (d, J = 13.2 Hz, 1H de un CH₂ de un sistema AB × 4 calix, 4H), 4.88 (m, CH-4 Xyl, 1H), 5.03 (t, J = 9.4 Hz, CH-2 Xyl, 1H), 5.35 (t, J = 9.4 Hz, CH-3 Xyl, 1H), 5.38 (t, J = 9.3 Hz, CH-1 Xyl, 1H), 6.47-6.89 (m, CH calix × 11, 11H), 6.63 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.91 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.09 (ddd, J = 0.8 Hz, J = 7.1 Hz, J = 7.9 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.19 (d, J = 1.4 Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 7.0 Hz, J = 8.0 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.31 (d, J = 1.7 Hz, CH Py, 1H), 7.44 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.57 (d, J = 8.3 Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.54-7.59 (sa, NH-3, 1H), 7.60-7.69 (m, CH-4 Ind + NH-5, 2H), 7.71 (d, J = 8.25 Hz, NH, 1H), 9.35 (s, NH-4, 1H), 9.69 (s, NH-2, 1H), 10.84 (s, NH-1, 1H). ¹³C-RMN (125 MHz, acetona-d₆): δ 16.7 (CH₃ × 4 calix), 21.6 (CH₃ (AcO)), 21.7 (CH₃ (AcO)), 27.5 (CH₂γ_b), 27.6 (CH₂), 27.7 (CH₂), 28.3

(CH₂), 30.3-31.4 (5 × CH₂), 32.4 (CH₂ calix), 33.6 (CH₂CH₂N), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃), 40.4 (CH₂γ), 50.3 (CH₂N), 65.7 (CH₂-5 Xyl), 65.8 (CH₂O), 67.7 (CH₂ × 2 calix), 67.8 CH₂ × 2 calix), 70.9 (CH-4 Xyl), 71.5 (CH₂ × 2 calix), 71.6 (CH₂ × 2 calix), 72.8 (CH-2 Xyl), 74.5 (CH-3 Xyl), 75.2 (CH₂ calix), 75.2 (CH₂ calix), 75.3 (CH₂ calix), 75.3 (CH₂ calix), 80.3 (CH-1 Xyl), 104.0 (CH Ind), 105.2 (CH Py), 106.0 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 120.4 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.1 (C), 123.5 (CH Ind), 123.9 (C), 124.1 (C), 124.7 (C), 125.6 (CH Ind), 129.0 (C), 129.2 (C), 129.8-130.0 (CH × 11 calix), 133.6 (C), 138.8 (C), 160.1 (C), 162.7 (C), 163.5 (C), 171.2 (CO × 2), 171.3 (CO × 2), 171.3 (CO), 171.5 (CO), 171.5 (CO), 172.0 (CS). **E. M. (ES +) m/z:** 1668.3 [M - 6]⁺, 1669.3 [M - 5]⁺, 1670 [M - 4]⁺, 1675.4 [M + 1]⁺, 1676.4 [M + 2]⁺, 1696.3 [M - 1 + Na]⁺, 1697.3 [M + Na]⁺. **Maldi-Tof** (matriz de ácido hidroxibenzoico) *m/z*: 1696.73 [M - 1 + Na]⁺, 1697.73 [M + Na]⁺.

1.2.2.3.5. Preparación de (AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (92.e)



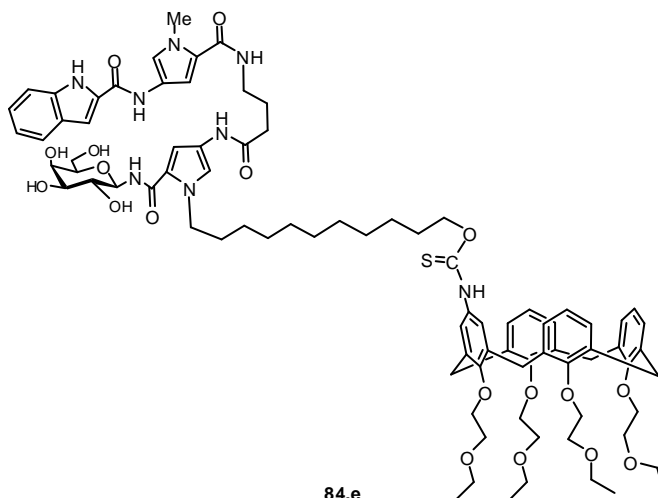
92.e

El compuesto **92.e** se prepara por el mismo procedimiento que **84.a**⁵⁶ a partir de **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.e)** (70 mg, 0.052 mmol) y **p-SCN-calix-[4]-areno (85)** (40.10 mg, 0.052 mmol). El compuesto se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad de hexano(A)/AcOEt(B): A/B 2:1 para eluir el **p-SCN-calix-[4]-areno (85)**; A/B 1:10 para obtener **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-p-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (92.e)** y B 100% para eluir la oligoamida de partida, **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (60.e)**. Cantidad de producto obtenido: 3 mg. R = 3% (sin tener en cuenta producto de partida recuperado). Esta reacción también se ha realizado empleando la base de Verkade en THF y acetonitrilo. Los rendimientos en estos casos son del 6 y del 12% respectivamente. $[\alpha]_D^{25} = 8.00^\circ$ (c = 0.3, acetona); **¹H-RMN (500 MHz, acetona-d₆)**: δ 1.14-1.22 (m, CH₃ calixareno × 4, 12H), 1.21-1.69 (m, CH₂ × 7, 14H), 1.56-1.64 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.66-1.76 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.88-1.94 (m, CH₂γ_b, 2H), 1.94 (s, CH₃ (AcO) 3H), 1.96 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.97 (s, CH₃ (AcO), 3H), 1.98 (s, CH₃ (AcO), 3H), 2.41 (t, J = 7.0 Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.16 (d, J = 13.3 Hz, 1 H de sistema AB calix × 4, 4H), 3.34-3.43 (m, CH₂γ_a, 2H), 3.49-3.64 (m, CH₂ × 4 calix, 8H), 3.87-3.92 (m, CH₂-6 Gal, 2H), 3.93 (s, CH₃, 3H), 4.01 (t, J = 6.7 Hz, CH₂O, 2H), 4.04-4.18 (m, CH₂ × 8 calix, 16H), 4.26-4.36 (m, CH₂N + CH Gal, 3H), 4.58 (d, J = 13.3 Hz, 1 H de sistema AB calix × 4, 4H), 5.22 (dd, J = 9.2 Hz, J = 10.2 Hz, CH Gal, 1H), 5.29 (dd, J = 3.5 Hz, J = 10.3 Hz, CH Gal, 1H), 5.45 (dd, J = 1.1 Hz, J = 3.5 Hz, CH Gal, 1H), 5.50 (t, J = 9.4 Hz, CH-1 azúcar, 1H), 6.47-6.80 (CH calix × 11, 11H), 6.72 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 6.91 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 7.09 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 7.0 Hz, J = 8.0 Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.20 (dd, J = 0.6 Hz, J = 2.0 Hz, CH-3 Ind, 1H), 7.24 (ddd, J = 1.11 Hz, J = 7.0 Hz, J = 8.30 Hz, CH-6 Ind, 1H), 7.31 (d, J = 1.8 Hz,

⁵⁶ Sección: 2.2.3.3. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-p-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (84.a)**

CH Py, 1H), 7.48 (d, $J = 1.8$ Hz, CH Py, 1H), 7.57 (dd, $J = 0.8$ Hz, $J = 8.2$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.49-7.57 (sa, NH, 1H), 7.64 (d, $J = 8.0$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 7.81 (d, $J = 9.7$ Hz, NH, 1H), 9.38 (s, NH-4, 1H), 9.69 (s, NH-2, 1H), 10.84 (s, NH-1, 1H). **^{13}C -RMN (125 MHz, acetona- d_6):** δ 16.7 ($\text{CH}_3 \times 4$ calix), 21.5 (CH_3 (AcO)), 21.6 (CH_3 (AcO)), 21.6 (CH_3 (AcO)), 21.6 (CH_3 (AcO)), 27.4 ($\text{CH}_2\gamma_b$), 27.6 ($\text{CH}_2 \times 2$), 28.3 (CH_2), 30.0-31.5 ($5 \times \text{CH}_2$), 30.9 (CH_2 calix sist AB), 33.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 35.5 ($\text{CH}_2\gamma$), 37.6 (CH_3), 40.4 ($\text{CH}_2\gamma$), 50.3 (CH_2N), 63.1 (CH_2 calix $\times 4$), 65.8 (CH_2O), 67.7 (CH_2 calix $\times 4$), 69.5 (CH_2 Gal), 70.3 (CH_2 calix), 71.6 (CH Gal), 73.1 (CH Gal), 73.8 (CH_2 calix), 80.0 (CH-1 Gal), 104.0 (CH Ind), 105.2 (CH Py), 106.1 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 119.9 (CH Py), 119.9 (CH Py), 120.5 (CH Ind), 121.9 (C), 123.0 (C), 123.5 (CH), 124.1 (C), 124.6 (C), 124.7 (C), 125.3 (C), 125.5 (C), 125.6 (CH Ind), 129.0-130.0 ($\text{CH} \times 11$ calix), 130.6 (C), 133.0 (C), 133.6 (C), 138.8 (C), 160.1 (C), 162.7 (C), 163.5 (C), 169.7 (CO), 171.1 (CO), 171.3 (CO), 171.4 (CO), 171.5 (CO), 171.6 (CO), 171.7 (CO), 172.0 (CS). **E. M. (ES +) m/z :** 1018.8 $[(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-GalPy}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OC=S-}]\gamma\text{PyInd}]^+$, 1019.8 $[(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-GalPy}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OC=S-}]\gamma\text{PyInd} + \text{H}]^+$, 1768.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **Maldi-Tof** (matriz de ácido hidroxibenzoico) m/z : 1018.45 $[(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-GalPy}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OC=S-}]\gamma\text{-Py-Ind}]^+$, 1040.45 $[(\text{AcO})_4\text{-}\beta\text{-Gal-Py}[(\text{CH}_2)_{11}\text{OC=S-}]\gamma\text{-Py-Ind} + \text{Na}]^+$, 1768.81 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. **IR (KBr) (cm^{-1}):** 3339.28, 2927.32, 2857.14, 1749.18, 1673.53, 1532.55, 1444.99, 1227.92, 1052.39.

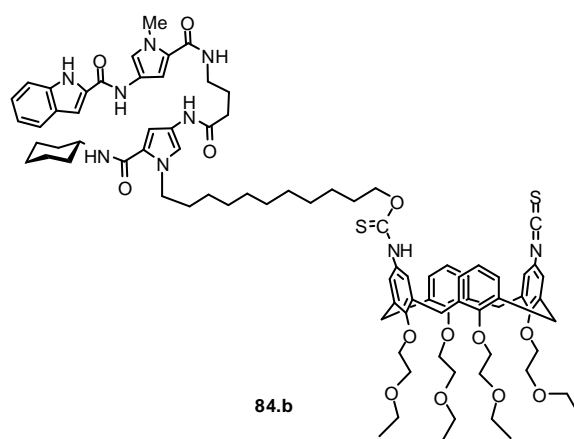
2.2.3.6. Preparación de **(HO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (84.e)**



A una disolución de **(AcO)₄-β-Gal-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (92.e)** (8 mg, 0.005 mmol) en MeOH (2 ml) a 0 °C se añade NaOMe (1 mg, 0.024 mmol) en metanol. La disolución se agita 30 min. a t. a. Transcurrido este tiempo, se evapora el disolvente a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna con CH₂Cl₂:MeOH (5:1). Cantidad de producto obtenido: 3 mg. R = 40%. **¹H-RMN (500 MHz, acetona-*d*₆):** δ 1.20-1.40 (m, CH₃ calix × 4, 12H + CH₂ × 7, 14H), 1.56-1.64 (m, CH₂CH₂O, 2H), 1.67-1.77 (m, CH₂CH₂N, 2H), 1.88-1.95 (m, CH₂γ_b, 2H), 2.40 (t, *J* = 7.0 Hz, CH₂γ_b, 2H), 3.34-3.43 (c, *J* = 6.2 Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.58-3.64 (m, CH₂ × 4 calix, 8H), 3.70-3.77 (m, CH Gal, 2H), 3.77-3.91 (m, CH Gal, 1H), 3.92 (s, CH₃), 3.98-4.00 (m, CH Gal, 1H), 4.02 (t, *J* = 6.7 Hz, CH₂O, 2H), 4.08-4.13 (m, CH Gal + CH₂ × 8 calix, 17H), 4.23-4.38 (m, CH₂N, 2H), 4.39-4.44 (m, CH Gal, 1H), 4.58 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H de

CH₂ sistema AB calix × 4, 4H), 5.08 (t, $J = 9.0$ Hz, CH-1 Gal, 1H), 6.40-7.00⁵⁷, 6.90 (sa, CH Py, 1H), 6.96 (sa, CH Py, 1H), 7.07 (t, $J = 7.5$ Hz, CH-5 Ind, 1H), 7.21-7.25 (CH-6 Ind + CH-3 Ind, 2H), 7.33 (d, $J = 1.6$ Hz, CH Py, 1H), 7.37 (d, $J = 1.3$ Hz, CH Py), 7.57 (d, $J = 8.3$ Hz, CH-7 Ind, 1H), 7.57-7.61 (as, NH, 1H), 7.63 (d, $J = 8.0$ Hz, CH-4 Ind, 1H), 7.63 (d, $J = 7.8$ Hz, NH, 1H), 9.35 (s, NH-4, 1H), 9.83 (s, NH-2, 1H), 10.96 (s, NH-1, 1H).⁵⁸ **E. M. (ES +) m/z:** 850.7 [(HO)₄-β-Gal-Py[(CH₂)₁₁OC=S-]-γPy-Ind]⁺, 851.8 [(HO)₄-β-Gal-Py[(CH₂)₁₁OC=S-]-γ-Py-Ind + H]⁺, 1579.2 [M + H]⁺, 1580.2 [M + 2]⁺, 1601.3 [M + Na]⁺, 1602.6 [M + Na + 1]⁺. **IR (KBr) (cm⁻¹):** 3369.11, 2917.58, 2851.64, 1672.49, 1443.85, 1070.88.

2.2.3.7. Preparación de cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-*p*-calix-[4]-areno-*p*-NCS]-γ-Py(A)-Ind (84.b)



⁵⁷ CH aromáticos del calix-[4]-areno: en el espectro de ¹H-RMN no se observan las resonancias correspondientes a los protones aromáticos del calix-[4]-areno. Esto puede ser debido a la distinta movilidad de los fragmentos de la molécula (fragmento oligoamídico y fragmento del calix-[4]-areno). Estas resonancias si se observan, sin embargo, en los experimentos bidimensionales (TOCSY y NOESY).

⁵⁸ Debido a las pequeñas cantidades manejadas y a la voluminosidad y complejidad del compuesto **84.d.** no fue posible la obtención del espectro de ¹³C-RMN.

El compuesto **84.b** se prepara por el mismo procedimiento que **84.a**⁵⁹ a partir de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)** (52 mg, 0.072 mmol) y **p-1,3-(SCN)₂-calix-[4]-areno (86)** (30 mg, 0.036 mmol). La reacción se agita 48 h. a t. a. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución de HCl (10%) y se extrae con AcOEt. Se separan las fases, la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora del disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna con gradiente de polaridad en hexano(A)/AcOEt(B): A/B 2:1 a A/B 1:9. Cantidad de compuesto, **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-p-calix-[4]-areno-p-NCS]-γ-Py(A)-Ind (84.b)**, obtenido: 8 mg. R = 7%. Recuperándose también un 40% de **p-1,3-(SCN)₂-calix-[4]-areno (86)** y un 57% de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OH]-γ-Py(A)-Ind (2.a)**. ¹H-RMN (500 MHz, acetona-d₆): δ 1.10-1.53 (m, CH₃ calix × 4, 12H + CH₂ × 7, 14H + CH₂ × 4 cHx, 8H), 1.53-1.80 (m, CH₂CH₂N + CH₂CH₂O, 2H), 1.86-1.93 (m, CH₂γ_b + CH₂ cHx, 4H), 2.37 (t, J = 7.00 Hz, CH₂γ_a, 2H), 3.08-3.27 (m, 1H de sistema AB del calix × 4, 4H), 3.36-3.41 (m, CH₂γ_c, 2H), 3.49-3.64 (m, CH₂ × 4 calix, 8H), 3.73-3.95 (m, CH₂ calix × 4 + H-1 cHx, 9H), 3.92 (s, CH₃, 3H), 3.99-4.25 (m, CH₂ calix × 4 + CH₂O, 10H), 4.26-4.35 (m, CH₂N, 2H), 4.53-4.63 (m, 1H de sistema AB del calix × 4, 4H), 6.39-6.86 (CH calix × 10), 6.63 (d, J = 1.9 Hz, CH Py, 1H), 6.91 (d, J = 1.8 Hz, CH Py, 1H), 7.04 (d, J = 7.3 Hz, NH, 1H), 7.08 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 7.0 Hz, J = 7.9 Hz, H-5 Ind, 1H), 7.19 (sa, H-3 Ind, 1H), 7.22 (d, J = 1.0 Hz, CH Py, 1H), 7.23-7.27 (m, CH-6 Ind, 1H), 7.32 (d, J = 1.6 Hz, CH Py, 1H), 7.56 (dd, J = 0.6 Hz, J = 8.3 Hz, CH-7 Ind + NH, 2H), 7.64 (d, J = 8.0 Hz, CH-4 Ind, 1H), 9.23 (s, NH, 1H), 9.70 (s, NH, 1H), 10.85 (s, NH, 1H). ¹³C-RMN (500 MHz, acetona-d₆): δ 16.7-16.8 (CH₃ x 4 calix), 27.1 (CH₂), 27.4 (CH₂), 27.5 (CH₂γ_b), 27.7 (CH₂), 28.2 (CH₂), 30.0-31.5 (5 x CH₂), 31.6 (CH₂ calix), 32.7 (CH₂), 33.7 (CH₂),

⁵⁹ Sección: 2.2.3.3. Preparación de **cHx-Py(B)[(CH₂)₁₁OC=SNH-p-calix-[4]-areno]-γ-Py(A)-Ind (84.a)**

34.7 (CH₂), 35.5 (CH₂γ), 37.6 (CH₃), 40.3 (CH₂γ), 49.8 (CH-1 cHx), 49.9 (CH₂N), 65.8 (CH₂O), 67.7 (CH₂ × 4 calix), 71.5-71.6 (CH₂ x 4 calix), 75.3-75.4 (CH₂ × 4 calix), 104.0 (CH Ind), 104.8 (CH Py), 105.2 (CH Py), 114.0 (CH Ind), 118.3 (CH Py), 119.9 (CH Py), 121.9 (CH Ind), 123.5 (CH Ind), 124.0 (C), 124.1 (C), 124.2 (C), 124.3, 125.0, 125.4, 125.5 (CH Ind), 126.7, 126.8, 127.1, 127.1, 129.0-130.0 (CH calix × 10), 130.2 (C), 130.3 (C), 133.6 (C), 136.0 (C), 136.5 (C), 136.9 (C), 136.9 (C), 138.8 (C), 139.0 (C), 158.3 (NCS), 160.1 (CO), 162.5 (CO), 163.0 (CO), 163.5 (CO), 171.2 (CS). **Maldi-tof** (matriz de ácido hidroxibenzoico) *m/z*: 1577.88 [M + Na]⁺, 1578.88 [M + 1 + Na]⁺.